Lane Medical Library

Zur Kenntniss der Granula der Zellen des Knochenmarkes, bezw. der Leukocyten.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

Ruprecht Karls-Universität in Heidelberg

vorgelegt

von

Friedr. H. Hesse,
approb. Arzt aus Zittau.

Mit Tafel.

Berlin.
Druck von Georg Reimer.
1902.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät Heidelberg.

Dekan: Prof. Dr. Kraepelin.

Referent: Geh. Rath Prof. Dr. Arnold.

Seinen Eltern

in Liebe und Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153506_0105

Die corpusculären Elemente des Blutes, denen bezüglich der Stoffwechsel-Vorgänge zum mindesten beim Transport zu- oder abzuführender Stoffe eine sehr wichtige Rolle zugeschrieben wird, haben andauernd das lebhafteste Interesse des naturwissenschaftlichen Forschers erregt. Bald waren es mehr die rothen, bald mehr die weissen Blutkörperchen, auf welche sich die Untersuchungen der Anatomen, Physiologen oder der Kliniker vorwiegend erstreckten. Wohl vor Allem seit den Arbeiten Cohnheims eröffneten sich Aussichten auf eine Erkenntniss der Wichtigkeit, der Bedeutung und andererseits des Wesens der farblosen Blutkörperchen, im Allgemeinen, wie im Besonderen. Von wie viel Gesichtspunkten aus man auch das Problem zu packen suchte, ein abschliessendes Urtheil ist indess trotz grösster Sorg-

falt und Mühe hierin noch nicht erzielt worden, es ist im Gegentheil auch hier der Fall eingetreten, dass mit dem tieferen Eindringen die Fragestellungen an Complicirtheit und Schwierigkeit zunahmen.

Einer der wichtigsten Wege ist der, durch Aufdeckung feiner Structur-Verschiedenheiten die weissen Blutkörperchen unter einander zu sichten und von dem Gesichtspunkte der Classificirung aus in die Symptomatologie und das eigentliche Wesen mannigfacher Processe einzudringen. Man hatte schon frühzeitig gelernt, Leukocyten mit einem gleichmässig homogenen Protoplasma zu unterscheiden von solchen, deren Leib mit zahlreichen feinen Körnchen erfüllt ist. — Einen grossen Schritt vorwärts auf diesem Wege bedeuten die ersten hämatologischen Veröffentlichungen Ehrlichs. Mittels ausserordentlich einfacher Methoden gelang es ihm, die Körnchen der „granulirten Leukocyten“ färberisch in exacten und prächtigen Bildern zur Darstellung zu bringen. Aus dem Verhalten den Farbstoffen gegenüber zog Ehrlich nun weitgehende Schlüsse; auf einer angeblich nur einseitig vorkommenden Farbenaffinität der Granula eines Leukocyten-Protoplasmas stellte er ein scharf differenzirtes System der granulirten Leukocyten auf und lehrte die verschiedenen Granula als etwas für die betreffende Leukocyten-Art Specifisches und von dem Leukocyten Secernirtes auffassen.

Die Ehrlich'sche Classificirung und seine Theorie der Leukocyten-Granula hat eine weitgehende Anerkennung, zum mindesten keinen Widerspruch, in Sonderheit bei den Klinikern, gefunden, so sehr auch ein solcher die Vorstellungen von der Bedeutung und Wichtigkeit des Blutbefundes beeinflussen musste. Neuere Arbeiten aber, vor Allem solche, die sich mit der Natur und der Bedeutung der Zell-Granula beschäftigen, lassen es wünschenswerth erscheinen, auch die Leukocyten-Granula eingehenderen Untersuchungen zu unterziehen. Es ist nun Zweck der vorliegenden Arbeit, an nach Ehrlich'schen Methoden behandelten Präparaten das färberische Verhalten der Leukocyten-Granula des Kaninchens nachzuprüfen. Die gewonnenen differenten, feineren färberischen Resultate gaben sodann Veranlassung eingehender auf die Arbeiten Ehrlichs und seiner Schüler und

ihre Theorien, sowie auf die Ergebnisse anderer Autoren betreffs der Zell-Granula und der Leukocyten einzugehen, und endlich die eigenen Ergebnisse der färberischen Untersuchung mit den bestehenden Anschauungen über die Eintheilung der Leukocyten und über die Bedeutung ihrer Granula in Beziehung zu bringen.

I.

Eigene Beobachtungen wurden angestellt an Blut und Knochenmark des Kaninchens, einem Lymphosarcom und verschiedenen Erweichungsheerden des Gehirns des Menschen.

Nach Ehrlich[25] findet man im Blut oder Knochenmark des Kaninchens eosinophile, amphophile und basophile Leukocyten. Die eosinophilen oder α-Granula führenden Zellen haben zuerst von Schwarze[79] eine eingehende Darstellung gefunden. Sie stellen, kurz gesagt, die Zellen mit den groben, stark Licht brechenden Granulis vor; sie sind rein acidophil, bevorzugen bei Färbung mit homogenen (sauren) und heterogenen Farbstoff-Gemischen immer das Eosin und besitzen ihrer Structur nach angeblich von allen Granula-Arten die grösste Dichtigkeit der Substanz.

Die die β-Granulationen enthaltende Leukocyten-Art, auch als indulinophile oder amphophile oder pseudo-eosinophile bezeichnete Form (Ehrlich[25], Kurloff[29], Hirschfeld[38]) zeigt in ihrem Leibe feinere Körnchen, die bei Tinction mit Eosin-Indulin-Glycerin das Indulin aufnehmen, bei Färbung mit einem einzigen Farbstoff sowohl für den sauren wie für den basischen zugänglich sind und bei der gewöhnlichen Hämatoxylin-Eosin-Färbung nur durch die geringere Grösse der Körner sich von den eigentlichen eosinophilen Granulis unterscheiden.

Den bisher genannten zwei Formen gegenüber treten die basophilen Leukocyten des Blut-Apparates an Zahl ausserordentlich zurück; es werden zwei Formen der Granulationen unterschieden, erstens die bekannte γ- oder Mastzellen-Körnung, zweitens die feine δ-Granulirung; über die speciellen Eigenschaften der letzteren Art stehen ausführlichere Untersuchungen zur Zeit noch aus[79].

Bei meinen Untersuchungen nun mussten selbstverständlich diese Ehrlich'schen Angaben als Grundlage für meine Eintheilung der Leukocytenformen zunächst angenommen werden. Die Versuche wurden an Deckglasabstrich-Präparaten ausgeführt, die streng nach den Ehrlich'schen Vorschriften[29] gewonnen und behandelt wurden. Des Vergleichs halber wurden ausser der Fixirung von 10—30 Minuten bis zwei Stunden Dauer auf der Kupferplatte bei 120° C. solche bei 100 und 140° C., sowie Fixirung in absolutem Alkohol und Aether-Alkohol (Nikiforoff) angewandt. Da die Befunde im Blute dasselbe ergeben, so seien im Folgenden ausführlich nur die Versuche am Knochenmark erwähnt; dieses Material hat den Vorzug, dass sich hier die uns interessirenden Zellformen in ausserordentlicher Häufigkeit vorfinden. Benutzt wurde das Mark der Röhrenknochen junger, höchstens 4—6 Wochen alter Kaninchen; im späteren Alter macht sich das Fett des Markes bei der Fixirung störend geltend.

1. Einfache Färbung mit glycerinigen oder wässerigen Lösungen von Eosin, Indulin, Aurantia, Orange-G, meist 12 Stunden lang. Fixirung bei 120° C. —

Mit diesem sauren Farbstoffen tingieren sich sowohl die groben wie feinen Granula, zumeist alle intensiv, niemals lassen sich ganz sicher vollständig ungefärbte Granula nachweisen. Mitunter aber kann man feinere Farbenunterschiede beobachten. Während z. B. wässerige Eosin-Lösung die groben und feinen Granula gleich intensiv färbt, sind in den Präparaten bei Eosin-Glycerin-Färbung die letzteren gelegentlich nicht so scharf sichtbar, mitunter erscheint es sogar zweifelhaft, ob sich wirklich alle Granula eines Zellleibes gefärbt haben; an Aurantia-Glycerin-Präparaten lassen die stets intensiv und distinct gefärbten feinen Granula häufig einzelne besonders stark Licht-brechende, sehr dunkel gefärbte Körner nachweisen, bei Anwendung wässriger Orange-Glycerin-Lösung sind einige der groben Granula in einer Zelle dunkler gefärbt als die übrigen; noch auffälliger ist der Unterschied bei kurzer (2stündiger) Färbung mit Indulin-Glycerin; grobe, wie feine Granula erscheinen mattblau, indess haben einige Granula, grobe und feine, innerhalb eines Zellleibes den Farbstoff intensiver aufgenommen als die anderen. Grössen-Unterschiede der Granula innerhalb eines Zellleibes sowie verschiedener Zellen sind nichts Seltenes, doch geht der Unterschied nicht so weit, dass man nicht Zellen mit groben und solche mit feinen Granulis auseinanderhalten könnte. Was die Zahlen-Verhältnisse sämmtlicher gefärbten Granula anbetrifft, so ist

überall die Menge in den einzelnen Zellen anscheinend eine ähnlich grosse, keinesfalls machen sich grobe Unterschiede bemerkbar.[1])

2. Färbung mit Indulin-Eosin-Glycerin, 12—24 St., Fixirung bei 120°, 100°, 140° C, in Alkohol absol. u. Aether-Alkohol.

Die verschiedene Fixirung ergiebt keine Unterschiede der Färbungs-Resultate, ebensowenig eine Differenzirung mit Anilinöl-Xylol (1:2). — Die groben Granula sind roth gefärbt, allerdings stets mit einem Stich in einen violetten Farbenton; garnicht selten enthalten diese Zellen daneben einige dunkelviolett gefärbte Granula. Die Zellen mit den feinen Granulis enthalten blau bis schwarz gefärbte Körner in einem meist violet gefärbten Protoplasma-Leib; mitunter zeigen die Granula aber auch ausgesprochene violette Töne. Die erwähnten Grössenunterschiede der feinen Granula sind häufig; im Allgemeinen sind dann die Granula umso dunkler gefärbt, je grösser sie sind; einzelne hellroth oder hellviolett gefärbte Granula kommen indess in diesen Zellen ebenfalls vor. Es besteht also keine absolute Constanz der Färbung der Granula innerhalb eines Zellleibes.

3. (Taf. VIII Fig. 1—6.) Färbung mit Ehrlich's Dreifach Glyceringemisch (Aurantia-Eosin-Indulin), 5 Min. bis 24 St. lang, event. kurze oder stundenlange Differenzirung mit Anilinöl-Xylol (1:2); Fixirung wie bei 2.

Zunächst macht sich eine offenbar von der Fixations-Temperatur abhängige Färbung der rothen Blutkörperchen geltend; bei Fixation bei oder unter 100° C. sind sie schwarz, bei 120° C. bräunlich, bei oder über 140° C. orange gefärbt.

Die Färbung der granulirten Leukocyten ergiebt bei allen Fixirungen ausgenommen der bei 140° C. dieselben Färbungs-Resultate, eben so wenig übt die Dauer der Färbung oder der Differenzirung einen merklichen Einfluss auf das Ergebniss der Färbung aus. Die groben Granula können rund, ovoid, eckig sein, mitunter kommen Zellen vor, in denen sie wie zusammengesintert erscheinen und nur angedeutete Contouren haben. Die Granula können innerhalb einer Zelle sämmtlich nur einen einzigen — rothen oder rothorangenen — Farbenton besitzen, in Präparaten, die bei 140° C. und darüber fixirt wurden, stets einen orangenen. In anderen grobgekörnten Zellen sind unter rothorangenen Granula einige wenige mit violetter Färbung

[1]) In Uebereinstimmung mit Hirschfeld (43) scheinen mir dagegen nach einigen wenigen Versuchen an Blut und Knochen-Mark foetaler Kaninchen einmal der Reichthum an granulirten Leukocyten ein geringerer, andrerseits der granulirten Leukocyten ärmer an Körnungen zu sein.

in heller oder dunkler Nuance eingestreut, gelegentlich auch zu zweien neben einander liegend; diese different gefärbten Körner zeigen stets, auch wenn die übrigen Granula keine scharfen Grenzen erkennen lassen, deutliche runde oder ovoide Formen. Die feinen Granula, die stets viel intensiver leuchtende Farbentöne zeigen als die grobkörnigen, liegen dicht oder lose im Protoplasma; es herrscht eine ausserordentliche Mannigfaltigkeit der Grössen-Unterschiede dieser Granula — es kommen solche vor, die fast die Grösse der groben erreichen —, als auch der Farbtöne innerhalb eines Zellleibes. Man könnte ebenso gut zehn wie zwei bis drei Nuancen der immer intensiv leuchtenden Färbungen aufstellen; die mannigfaltigsten Bilder traten auf bei Fixirung bei 120° C. und nachfolgender kurzer Färbung. Vor allem sind die Farben Orange, Rothorange, Rothviolett und Dunkelblau bis Blauschwarz vertreten. Die grösseren Granula sind in der Regel bei Weitem in der Minderzahl und haben meist die dunklen Farbtöne angenommen, womit indess nicht gesagt sein soll, dass auch die ganz feinen Granula nicht auch häufig violett oder dunkelfarbig geworden wären. Ein sicheres Urtheil darüber, welche Sorte der Granula überwiegt, ist mir nicht möglich auszusprechen, die Variationen sind durchaus unregelmässig. Constant schien auch hier das Hervortreten der Aurantiafärbung bei den bei 140° C. fixirten Präparaten und das der Indulinwirkung bei den bei 100° C. fixirten Objecten: Alkohol-Präparate ergaben keine so leuchtende Färbung und keine so scharf ausgesprochenen Farb-Unterschiede; zumeist sind alle Granula violett gefärbt.

4. (Taf. VIII Fig. 7—15.) Färbung mit 1 pCt. wässriger Methylenblau-Lösung 5—10 Min., Abspülen mit destill. Wasser, Trocknen, Balsam. — Fixation wie bei 2.

Die Zellen mit den groben Granulis zeigen im Allgemeinen keine Färbung der Körner, sondern es tritt ein äusserst feines, meist etwas metachromatisch grünblau, in der Farbe des Kernes, gefärbtes regelmässiges Fadennetz hervor, welches ohne Unterbrechung den Protoplasma-Leib durchzieht; an Stelle der Granula sieht man also eckige Lücken. In Präparaten aber, die in absolutem Alkohol oder bei 100° C. oder darunter fixirt waren, liessen sich in diesen Zellen gelegentlich verstreute, mitunter zu zweien und mehr benachbarte, grünblau gefärbte Granula erkennen, also Bilder, die mit denen übereinstimmen, welche sich bei Combinations-Färbungen mit sauren Farbstoffen nachweisen liessen.

Interessante Befunde ergaben die Zellen mit den feinen Granulis. Schätzungsweise ist der Reichthum an erkennbaren Granulis bei Alkohol-Fixirung der grösste; gefärbte Granula treten in den Zellen aller Art auf: in rundkernigen mit schmalem oder breitem Protoplasma-Saum, in solchen mit angedeuteter Einschnürung und vollendeter Hufeisen-Form des Kerns, in stark polymorph-kernigen oder polynucleären Formen.

Dem reichlichen Auftreten der Granula an sich gaben Mannigfaltigkeit der Grösse und des Farbenreichthums, insbesondere in Alkoholpräparaten, nichts nach. Manche Zellen enthalten nur feine, andere nur gröbere Körner, andere beide Sorten in verschiedensten Mengen-Verhältnissen und Grössen-Abstufungen. — Die Färbung der stets runden Granula ist in manchen Zellen eine rein blaue, in anderen eine metachromatische: die metachromatisch schwarz und rothviolett gefärbten Granula treten nie allein in einer Zelle auf, sondern stets untermischt mit blaugefärbten. Die Metachromasie tritt am häufigsten in den sogen. Myelocyten und Uebergangsformen auf, ohne aber die polymorphkernigen auszuschliessen.

Sehr häufig lassen sich an den durch Hitze fixirten Präparaten Beziehungen der blau gefärbten Granula zu ebenfalls blaugefärbten Fäden nachweisen.

Bemerkenswerth sind sodann Zellen mit rundem oder eingebuchtetem, meist schwach gefärbtem Kern, welche deutlich zweierlei Granula erkennen lassen: spärliche, dicke, intensiv blaue und dazwischen eine ganz dichte, feine, mehr lila gefärbte Granulirung. Einen dritten Befund bieten Zellen dar, welche in breitem, mattblau gefärbtem Protoplasma-Saum verstreute, dicke, intensiv gefärbte Körner zeigen; an den bei 120° C. fixirten Präparaten liessen sich in solchen Zellen regelmässig ungefärbte Granula erkennen, bei Alkohol-Fixirung dagegen nicht.

Endlich seien als merkwürdige Form einige spärliche Formen mi runden oder eingebuchteten und hufeisenförmigen Kernen und breitem Protoplasma-Saum erwähnt, welche grosse, eigenthümliche, eckige, zackige oder ausgebuchtete, mitunter kahn- oder keilförmige Körperchen als intensiv blau gefärbte, regelmässig verstreute Gebilde in geringer, leicht zählbarer Menge im Protoplasma führten. Die Grösse dieser an Nissl-Körperchen erinnernden Protoplasma-Einschlüsse variirt ausserordentlich, stets übertreffen sie aber die sogen. eosinophilen Granula; der übrige Zellleib zeigt daneben eine feine, bei Alkohol-Präparaten metachromatisch gefärbte, lockere Granulirung. Beobachtet wurden diese Gebilde nur an Präparaten, die in Alkohol oder bei 100° C. fixirt worden waren.

Was nun ganz allgemein die Mengen-Verhältnisse der gefärbten Granula anlangt, so scheint bei der Methylenblau-Färbung die Art der Fixirung für das schliessliche Resultat nicht gleichgiltig zu sein. Alkohol-Präparate scheinen die zahlreichsten Granula zu liefern, sie scheinen sämmtlich basophil zu sein, da helle Lücken, die als ungefärbte Granula angesprochen werden könnten, nicht auftreten; rund- und polymorphkernige Formen sind von Granulis gestopft voll. Aehnliche Verhältnisse liefern nach Nikiforoff fixirte Trocken-Präparate, auch noch bei 100° C. fixirte Objecte; aber hier trifft man bereits nicht selten an Stelle von Granulis helle, ungefärbte Lücken; dieser Thatbestand erreicht mit steigender Temperatur (bis 160—180° C.) eine immer grössere Häufigkeit; ausserdem färben sich in den bei hohen Temperaturen fixirten Zellen die Granula

nicht mehr metachromatisch. Am raschesten scheint die Zahl gefärbter Granula in den polymorphkernigen Leukocyten abzunehmen; in allen Fällen aber scheinen die Zellen, die sich später blau färben, der Hitzewirkung am längsten zu widerstehen, wenn diese Erscheinung nicht darauf beruht, dass in Folge dieser Art der Fixirung Metachromasien überhaupt verhindert werden. — Die Herabsetzung des Färbevermögens, die die Granula zunächst noch als helle ungefärbte Lücken erkennen lässt, hat als späteres Stadium ein solches, in welchem von Granulis überhaupt nichts mehr zu sehen ist, sondern der ganze Protoplasmaleib hell, homogen, ungefärbt erscheint. —

Trotz jener zahlreichen Verschiedenheiten der Granula in Bezug auf Grösse, Färbung und Verhalten gegen verschiedene Temperaturen ist es mir nicht möglich gewesen, principielle Unterschiede unter den feingekörnten Zellen festzustellen, es ergeben sich vielmehr hieraus alle möglichen Uebergänge und Bindeglieder. Einen Unterschied von Zellen, der sich allein auf das Verhalten von β-, γ- oder δ-Granulirungen gründete, konnte ich im Knochenmark des Kaninchens nicht nachweisen. Trotz der metachromatischen Färbung zahlreicher Körner kann es sich um Mastzellen nicht handeln, denn ausschliesslich mit metachromatisch gefärbten Körnern erfüllte Zellen konnte ich nicht nachweisen. Hält man sich streng an die Ehrlich'schen Grundsätze von der Bedeutung der Färbe-Resultate, so lassen sich allein auf Grund eines einfachen Methylenblau-Präparates zum mindesten 2 Arten von Granulis in den sogen. amphophilen Leukocyten aufstellen, einmal jene gröberen, sich fast immer färbenden, spärlicher auftretenden Granula, sodann jene feineren, sich häufig metachromatisch färbenden. Ob die als helle Lücken imponirenden ungefärbten Granula mit letzteren identisch sind oder eine dritte Möglichkeit darstellen, möchte ich dahingestellt sein lassen.

5. Dahliafärbung, in Lösungen nach Ehrlich und Westphal. Fixirung wie bei 2.

Beide Lösungen ergeben, was Granula-Färbung anlangt, im Wesentlichen gleiche Resultate; die Westphal'sche Lösung scheint zahlreichere Granula hervortreten zu lassen, als die Ehrlich'sche. Die Art der Fixirung lässt Unterschiede nicht hervortreten. Die granulirten Zellen ergeben meist Bilder, wie man sie an Methylenblau-Präparaten nach Fixirung bei 120° C. zu sehen gewohnt ist; häufig treten Granula in Ketten auf oder es sind Beziehungen zu Fäden nachweisbar; oft zeigt das Protoplasma in Zellen, die gefärbte Granula enthalten, runde helle Lücken. Auffallend ist der Thatbestand, dass in den polymorphkernigen kleinen Leukocyten fast nie Granula zu sehen sind.

6. (Taf. VIII Fig. 16, 17.) Färbung mit concentr. glycerinigen und wässrigen Lösungen von Eosin 24 St. lang, Abspülen, Nach-

färbung mit 1 pCt. Methylenblau-Lösung 1—2 Min., Differenzirung mit Anilinöl-Xylol (1:2) 3 und 24 St. lang. — Fixirung bei 120° C oder in Alkohol absolut. oder nach Nikiforoff.

Die Absicht, auf diesem Wege basophile neben acidophilen Granulis mittels Successiv-Färbung und nachfolgender Differenzirung in einer Zelle nachzuweisen, wie dies von Arnold beschrieben wurde, misslang. Während die Differenzirung auf die Färbung der groben überhaupt und auf die der feinen bei Anwendung der wässerigen Eosin-Lösung ohne Einwirkung blieb und die Granula in schönem Roth hervortraten, waren bei den in glyceriniger Lösung gefärbten Objecten nach längerer Differenzirung Unterschiede der feinen Granula insofern bemerkbar, als ein Theil derselben sich entfärbte, andere, meist in Gruppen bei einander, sich roth oder rothviolett gefärbt erhielten; in Alkohol-Präparaten zeigten sich des öfteren auch ungefärbte Granula als helle Lücken; Grössenunterschiede der gefärbt gebliebenen Granula liessen sich auch bei dieser Methode beobachten.

7. (Taf. VIII Fig. 18.) Färbung und Aurantia-Glycerin 12 St., 1 pCt. Methylenblau-Lösung 1—2 Min., kurze Differenzirung mit Anilinöl-Xylol. Fixirung bei 120° C.

Die Zellen mit groben Granulis zeigen die letzteren meist in hellbraunem Farbtone; gar nicht selten sind in sie grünliche eingestreut; gross ist wiederum die Variation bei den Zellen mit feinen Körnungen; es kommen vor Zellen mit hellbraun gefärbten, solche mit hellbraun und grünlich gefärbten, andere mit einigen grünen Granulis und zahlreichen hellen Lücken und endlich solche mit distincten, blau gefärbten Körnern.

Auch eine Vorfärbung mit wässeriger Orange-G-Lösung und Weiterbehandlung mit Methylenblau und Anilinöl-Xylol ergab neben einheitlich gefärbten Körnungen einer Zelle sehr häufig Differenzen in der Färbung der einzelnen Granula innerhalb eines Zellleibes, sowohl bei grob- wie bei den feinkörnigen Leukocyten.

8. Färbung mit Triacid. Fixirung bei 100°, 120°, 140° C.

Grobe und feine Granula haben dieselbe Färbung, ein Violettroth, angenommen. Intensitätsunterschiede der Färbung kommen aber bei beiden Sorten innerhalb einer Zelle vor, und zwar ist innerhalb einer grobgranulirten Zelle eine kleine Minderzahl der Granula intensiver gefärbt; bei den feingranulirten trifft man alle Uebergänge von heller zu dunkler Nuance, sowohl was die verschiedenen Zellen, als auch die Granula einer und derselben Zelle anlangt. Grosse Mannigfaltigkeit zeigen auch die Dichtigkeits- und Grössenverhältnisse der feinen Granula. —

9. (Taf. VIII Fig. 19—38.) Schliesslich möchte ich über die Färbungsresultate mit neutraler Eosin-Methylenblau-Mischung berichten, die mir Herr Dr. H. Laurent[49] bei seinen Versuchen

mit diesem neuen Farbkörper freundlichst zur Verfügung stellte. Es handelt sich um die Färbungen mit den Seite 89 in der Rubrik 3, 4 und 5 bezeichneten Mischungen, deren Ergebnisse, da principielle Unterschiede bei kalter oder heisser Anwendung der Lösung oder heisser Anwendung der Mischung nicht entstanden, ohne weiteres zusammengefasst werden können. Als Differenzirungsmittel wandte ich Anilinöl-Xyol (1:2) in verschieden langer Dauer an.

Bei kurzer Differenzirung ($\frac{1}{2}$—2 Min.), d. h. solange, als gerade nöthig ist, dass der Farbstoffniederschlag vom Deckglas verschwindet, ist die Mehrzahl der groben Granula roth mit einem leicht violetten Strich gefärbt; fast stets kann man aber unter ihnen solche finden, die ausgesprochen violett, ja blau gefärbt sind. Stundenlange Differenzirung bewirkt mitunter, aber nicht immer, ein Verschwinden der Blaufärbung der groben Körner, während die Rothfärbung durchaus unbeeinflusst bleibt.

Die Färbung der sogen. pseudoeosinophilen Leukocyten zeigt die mannigfachsten Ergebnisse, aus denen sich indess Haupttypen herausheben lassen. In den zahlreichsten Fällen lassen sich zwei Sorten von Granulis innerhalb eines Zellleibes nachweisen. Bei kurzer Differenzirung zeigen sich tiefblaue oder dunkelblau-violette und dicht stehende, meist feinere, mattroth oder hellviolett gefärbte Körnchen, häufig am schönsten und distinctesten in den grossen und mononucleären Zellen (Myelocyten) mit breitem Protoplasmasaum, während sie in den polymorphkernigen mitunter verwaschen gefärbt sind. Die blauen Granula sind die spärlicheren; Beziehungen zu Fäden sind bei beiden Sorten von Granulis in den einen Zellen nachweisbar, in anderen wieder nicht. Manchmal hat man den Eindruck, als stände die Blaufärbung der Granula mit deren naher Lagerung zur Kern- oder Zellwand in Beziehung, in anderen Fällen aber liegen die blauen Granula regellos unter den übrigen hellvioletten verstreut. Ferner kommen Zellen von im Uebrigen genau demselben Charakter, wie die eben geschilderten, vor, welche aber nur eine Sorte von Granulis führen, nur feine rothe oder nur blaue bei gleichzeitig diffus mattviolett gefärbtem Protoplasma, und endlich solche Zellen, welche ausser jenen beiden Sorten von Granulis noch offenbar ungefärbte oder bereits wieder entfärbte erkennen lassen. —

Bei langer, vielstündiger Differenzirung mit Anilinöl-Xylol erhielt man andere Bilder. Man sieht nunmehr entweder nur die spärlichen blauen Granula in einem violetten Ton gefärbt, während die feinen rothen als helle Lücken imponiren, oder es sind nur wenige, meist mit Fäden versehene, in der Zelle verstreute Granula mit röthlicher Färbung zu erblicken; das übrige Protoplasma ist ungefärbt. Endlich kommen noch mononucleäre Zellen mit schmalem violetten Protoplasmasaum vor, welche einzelne blaue Granula enthalten.

Es ergänzen sich somit meines Erachtens die Präparate bei verschieden

langer Differenzirung unter einander recht gut, da die verschiedenen Granula dem differenzirenden Mittel einen verschiedenen Widerstand entgegensetzen, sodass nur jene spärlicheren Granula noch die Farbe behalten, wobei sie zugleich einem Farbwechsel unterliegen; wenn nicht die Deutung die richtigere ist, dass sämmtliche Granula das Eosin aufgenommen hatten, die eine Sorte von ihnen aber noch das Methylenblau, welch letzteres aber der Entfärbung nicht zu widerstehen vermochte.

Die Analogie mit den Resultaten der vorher erwähnten Färbungsmethoden ist eine in die Augen fallende; nur sind bei Anwendung des Laurent'schen Tinctionsmittels die Farbdifferenzen noch deutlicher und prägnanter. Enthielt nun das Laurent'sche Gemisch einen minimalen Ueberschuss an gelöstem Methylenblau, so änderte dies an dem bei Anwendung der rein neutralen Mischung gewonnenen Färbungsresultate nichts, im Gegentheil, ohne dass die Wirkung des Eosins gestört wurde, trat der Einfluss des Methylenblaus um so contrastirender hervor.

Folgt man der Ehrlich'schen Auffassung von dem Werthe der Färbung und der auf ihr gegründeten Eintheilung der Granula, so ist man nach diesen Resultaten gezwungen, ein constantes, normales, nicht an pathologische Vorgänge geknüpftes Auftreten von verschiedenartigen Granulis in einem Zellleib der meisten granulirten Leukocyten des Knochenmarkes des Kaninchens anzunehmen. Die „eosinophilen" und die „pseudoeosinophilen" zeigen hierin nur graduelle Unterschiede. Beim Kaninchen lässt sich eine Scheidung dieser beiden Leukocyten-Classen aufrecht erhalten, nicht so sehr aus Gründen ihres Verhaltens nur gegen Farbstoffe, sondern aus allgemeinen morphologischen Gesichtspunkten.

Wenn es auch zweifellos bei Beurtheilung nur der Grösse der Granula mitunter schwierig ist, und es dem subjectiven Gutdünken überlassen bleiben muss, ob man eine granulirte Zelle zu den „eosinophilen" oder „pseudoeosinophilen" zu rechnen hat, da alle Grössenübergänge thatsächlich vorkommen, so zeigen sich doch in der grösseren Mehrzahl die „eosinophilen" Granula 3—5 mal so gross als die kleinen „pseudoeosinophilen". Die groben Granula liegen zumeist gleichmässig und regelmässig neben einander und lassen, falls sie gefärbt sind, keine Zwischensubstanz gefärbt erkennen. Sie können, wie es schon oft beschrieben ist, allerlei Formen annehmen; man findet ganz runde, ovoide, dreieckige, längliche, unregelmässig zugespitzte, abgeplattete u. s. f. Niemals konnte ich in den gefärbten Trocken-

präparaten bei Färbung mit sauren Farbstoffen fädige Verbindungen der groben Körner unter einander finden. Sind sie einmal gefärbt, so sind bei langdauernden Differenzirungen mit Anilinöl-Xylol nur sie schliesslich diejenigen, die das Eosin behalten. Was die Grösse der Granula anlangt, so kommen unter den Zellen, die sich leicht als eosinophile abgrenzen lassen, erhebliche Schwankungen vor, sowohl, wie schon erwähnt, bei den Granulis der verschiedenen Zellen, als auch innerhalb eines und desselben Zellleibes. Was die Färbbarkeit der groben Granula anlangt, so gelang es bei keiner Fixation, sie mit Dahlia zu färben; Methylenblau brachte zumeist ein feines, matt blaugrünes Netz hervor, welches eckige Lücken einschliesst. Indulin, Eosin, Aurantia in glyceriniger Lösung, wässeriges Eosin und Orange-G. wurden gleich gut aufgenommen, mitunter allerdings mit Intensitäts-Schwankungen. Indulin-Eosin-Glycerin, sowie Ehrlich's Dreifarb-Mischung liessen stets neben den zahlreichen hellen einige dunkler gefärbte Körner erkennen. Die Farbnüancen traten in demselben Mengenverhältniss ebenfalls auf bei Vorfärbung mit einem der sauren Farbstoffe und Nachfärbung mit 1 procent. Methylenblau, am negativsten bei Successiv-Färbung mit Eosin-Methylenblau. Auch Triacid färbte einige Granula in einem Zellleib dunkler, als die Mehrzahl; dasselbe gilt von allen angewandten Laurent'schen Farbstoff-Combinationen; bei dieser letzteren Methode waren die Unterschiede am deutlichsten zu sehen.

Da die Zahl und Lagerung der vom Eosin different gefärbten Granula bei Anwendung der verschiedenen Farbstoffe immer dieselben Verhältnisse zeigten, so ist wohl der Schluss gerechtfertigt, dass die different gefärbten Granula zusammengehörige Gebilde darstellen.

Die sog. „pseudoeosinophilen" Zellen bieten complicirtere Verhältnisse dar. Der Haupteindruck ist der einer gleichen, ganz ausserordentlichen Variabilität des gefärbten Protoplasmaleibes an Zellen, die man nach Arbeiten der früheren Autoren als in eine Classe gehörig nicht betrachtet; es ergiebt sich hierbei vielmehr, dass die Färbung der Granula principielle Unterschiede, wie das morphologische Verhalten des Kerns, auf welches sich vor Allem bei den granulirten Leukocyten eine Eintheilung gründet, bei

den verschiedenen Zellformen nicht erkennen lässt, kurz gesagt, dass Zellen mit rundem und mit hufeisenförmigem oder polymorphem und endlich mit polynucleärem Kerne alle die gleichen Variationen des Verhaltens der Granula, insbesondere Farbstoffen gegenüber, besitzen. Es haben die folgenden Ausführungen für die sogen. Myelocyten, Uebergangsformen und polynucleären in gleicher Weise Geltung.

Zunächst finden sich fast in allen Zellen bei jeder Färbung Grössenunterschiede der Granula, wenn auch Zellen mit nur gleich grossen Körnchen vorkommen. Im ersteren Falle pflegen die grösseren Granula in der Minderzahl vorhanden und zwischen die übrigen Granula verstreut zu sein. Die Anfüllung der Zellen mit Granulis ist, unabhängig von der Kernform, eine ganz verschiedene, bald eine ausserordentlich dichte, bald eine mehr lockere und gleichmässige oder gruppenweise Vertheilung im Zellleib. Intensitäts-Schwankungen der Färbung der einzelnen Granula fanden sich nahezu in jeder Zelle, selbst bei Anwendung einfacher saurer Farbstoff-Lösungen. Diese hierdurch angedeuteten Differenzen der Granula diesen Farbstoffen gegenüber wurden bei Anwendung anderer viel deutlicher. Es lassen sich, wie es die Präparate lehren, welche mit Ehrlich's Dreifach-Glycerin-Gemisch, welche mit einfacher Methylenblau-Lösung und den verschiedenen Modificationen des Laurent'schen Farbstoffes tingirt wurden, 2 Typen von Granulis erkennen, einmal eine grössere, spärlichere Sorte, welche sich rasch und intensiv färbt, offenbar eine Affinität zu allen möglichen Farbstoffen hat, die, wenn einmal gefärbt, entfärbenden Einwirkungen gegenüber sich ziemlich indifferent verhält, deren Färbung auch die Art der Behandlung vor der Färbung (Hitze, Methylenblau-Färbung) nichts anhat. Die andere Sorte ist viel feiner, erweist sich der Färbung gegenüber viel empfindlicher und labiler, sie verträgt hohe Hitzegrade schlecht, entfärbt sich leicht, ist überhaupt bei bestimmten Färbungen schwerer zur Darstellung zu bringen. Beide Granula-Sorten aber verhalten sich singulären Färbungen gegenüber acido- und basophil, wobei die eine bei Methylenblau-Färbung metachromatisches Verhalten zeigt, hingegen bei Simultan- oder Succedan-Färbungen mit heterogenen Farbstoffen die gröbere Sorte den basischen Farbstoff noch ausser dem sauren aufnimmt. Aus der Art der

Lagerung, dem ungefähren procentualen Verhältniss und der bedeutenderen Grösse ist hier derselbe Schluss wie bei den „eosinophilen“ am Platze, dass das, was hier different zum Vorschein kam, handelte es sich um Färbung mit Indulin-Eosin-Aurentia-Gemisch, um Färbung mit Methylenblau u. s. w., ebenfalls etwas zusammengehöriges darstellt.

Nochmals sei aber ausdrücklich betont, dass diese Zellarten mit jenen beiden Sorten von Granulis nur die Mehrzahl der vorkommenden Formen bilden, und dass sie ausserdem noch alle möglichen Variationen bei der Färbung erkennen lassen; es sei erwähnt, dass einmal das intergranuläre Protoplasma gefärbt sein kann oder nicht, dass sich Zellen finden, die nur feinkörnige, einfarbige Granula enthalten, andere, die ausser einem diffus gefärbten Protoplasma nur einige der gröberen Granula enthielten, dass sich mitunter die differente Färbung der groben Granula nur an die Kern- oder Zellgrenze hielt, dass der Nachweis der Beziehungen der Granula zu Fäden ein durchaus verschiedenes Resultat darbot, dass bei Anwendung der Ehrlich'schen Dreifach-Glycerin-Gemisches in einer Zelle alle Uebergänge vom Tone des Aurantia bis zum tiefsten Blauschwarz auftreten können, sowie dass bei bestimmter Differenzirung ausser den gefärbt bleibenden Granulis noch Körnungen vorkommen, welche als helle, ungefärbte, aufleuchtende Lücken sich darstellten. Endlich sei hinzugefügt, dass die verschiedenen Farblösungen selbst nicht ohne Einfluss auf die resultirende Grösse der Granula sind; z. B. erscheinen die Granula gefärbt mit Ehrlich's neutraler Mischung plumper als bei Färbung mit dem Glyceringemisch.

Diese Versuche ergeben für die Granula in den granulirten Leukocyten des Kaninchenknochen-Markes Folgendes:

1. Es bestehen bei eosinophilen und pseudoeosinophilen Zellen in Bezug auf die Granula gleichwerthiger Zellen sowohl bei verschiedenen Zellindividuen als innerhalb ein und derselben Zelle zahlreiche Unterschiede hinsichtlich der Grösse, Form, Lichtbrechung und Zahlenverhältnisse.

2. Es scheint bei bestimmten Färbungen eine Con-

stanz der Zahlenverhältnisse der grösseren und kleineren Granula innerhalb einer Zelle zu bestehen.

3. Es besteht eine Verschiedenheit der Farbenintensität der Granula innerhalb der gleichen Zelle bei Anwendung der gleichen Farbe als auch eine Verschiedenheit des Färberesultates bei den einzelnen Granulis innerhalb einer Zelle bei Anwendung von Farbstoffgemischen.

4. In gleichwerthigen Zellen tritt häufig eine Verschiedenheit der Färbung des intergranulären Protoplasmas auf.

5. Gegen Temperatur, Einwirkung von Reagentien (Fixirungsmitteln) und Differenzirungsmitteln verhalten sich die Leukocytengranula, auch die einer Zelle, verschieden.

Höchst interessante Befunde ergaben sich nun an den folgenden Materialien, deren Bearbeitung ich der Anregung meines früheren Chefs, des Herrn Geh. Rath Arnold, verdanke.

In einem exstirpirten Lymphosarkom der Achselhöhle, welches von der hiesigen chirurgischen Klinik dem Pathologischen Institut zur Untersuchung überschickt war, fanden sich ausserordentlich zahlreiche eosinophile Leukocyten. In ihnen hatten sich alle Körnchen intensiv mit Eosin gefärbt. Unterwarf man aber die in Formol fixirten, mit dem Gefriermikrotom geschnittenen (10—20 μ) Präparate einer Behandlung in 1% Osmiumsäure oder in Flemming'scher Flüssigkeit, so hatte ein Theil der eosinophilen Granula eine Grau- bis Schwarzfärbung angenommen, und zwar in den verschiedenen Zellen in ganz verschiedener Anzahl; die übrigen Granula leuchteten nur hell auf.

Einfache Färbung mit Sudan III ergab das analoge Resultat: Färbung der einen eosinophilen Körner in prächtigem Roth bei Farblosigkeit der anderen innerhalb eines Zellleibes; man traf Zellen, in denen nur einige wenige Granula die Sudanfärbung angenommen hatten und andere, welche mit rothen Granulis gestopft voll waren; alle Uebergänge traten auf. — Der Versuch, mittels Nachfärbung mit glyceriniger oder wässe-

riger Lösung von Indulin oder Nigrosin eine Doppelfärbung zu erzielen, misslang zunächst; sämmtliche Granula färbten sich blau oder grauschwarz. Kehrte ich dagegen die Reihenfolge der Farbstoffe um, färbte 20 St. mit den Lösungen der sauren Farbstoffe vor und dann in der üblichen Weise mit Sudan III nach, so erhielt ich in denselben Mengenverhältnissen wie bei singulärer Färbung mit Sudan III die einen Granula in prächtiger rother Farbe, die andern aber in der des Nigrosins oder Indulins; die Färbung war eine ausserordentlich distincte und präcise. Es fanden sich also innerhalb desselben granulirten Leukocyten Fettgranula und acidophile Granula, wobei aber die Fettgranula saure Farbstoffe noch ausserdem aufzunehmen vermochten.

Das andere Material stammte aus Gehirnhämorrhagien verschiedenen Alters und verschiedener Herkunft. Besonders werthvoll für unsere Frage erwies sich Gehirnmasse aus der Umgebung eines grösseren Sarkoms des Gehirns, in dessen Nachbarschaft es zu zahlreichen Blutungen gekommen war. Haemosiderofere und Fettkörnchen-Zellen sind an solchen Orten ja nichts Seltenes, und diese Objecte werden gerade zu Unterrichtszwecken besonders gern benutzt. Auch hier fiel der Reichthum an derartigen Elementen bei der mikroskopischen Untersuchung auf. Fettkörnchen der verschiedensten Grösse füllten zahlreiche Zellen aus; oft kam es zu Confluenzerscheinungen. Dasselbe galt für Haemosiderinkörnchen. Aber in beiden Zellformen — wobei ich die schwierige Frage unerörtert lassen will, ob sie stets als leukocytäre Elemente anzusprechen sind — fanden sich des öfteren Körnchen, welche nicht auf die Reagentien (Flemming'sche Lösung, Sudan III oder Ferricyankali-Salzsäure) reagirten, sondern ungefärbte Körner blieben. Bei successiver Anwendung von Sudan III und Ferricyankali-Salzsäure, gleichgültig in welcher Reihenfolge, aber hatten Körner sich gefärbt, und es lagen jetzt blaue und rothe Granula und Conglomerate in einem Zellleib in distincter Reaction dicht nebeneinander.

Fasst man diese Elemente aus Erweichungsheerden des Gehirns als leukocytäre Elemente auf, so kann man wohl den Arnold'schen experimentellen Resultaten seiner functionellen

Granula auf pathologischem Gebiete kaum eine bessere Illustration geben.

Noch ein anderer Befund ergiebt einen Ausblick in die Unsicherheit unserer Kenntnisse von den granulirten Leukocyten. Es handelte sich um eine alte grössere Narbe im Wurm des Kleinhirns; in Formol fixirt, mit dem Gefriermikrotom geschnitten, sah man in den ungefärbten Schnitten zahlreiche Zellen, welche Granula verschiedener Grösse, daneben aber feine nadelartige Krystalle enthielten. Die letzteren färbten sich mit Sudan III schlecht, die Körnchen aber sich überhaupt nicht; die Körnchen zeigten auch keine Haemosiderinreaction, färbten sich auch nicht mit sauren Farbstoffen. — Bei Färbung aber mit heisser Laurentscher Mischung nahmen die grösseren Körner eine deutliche blaue Färbung an und zeigten Beziehungen zu Fäden, die kleinen Körner blieben ungefärbt und jene Krystalle waren wohl unter dem Einfluss der Hitze oder des differenzirenden Alkohols überhaupt verschwunden.

II.

Obwohl Ehrlich in einer seiner ersten hämatologischen Arbeiten[25] im Grunde genommen für die differente Färbung der α- und β-Granulationen in Gemischen saurer Farben eine physikalische Erklärung des Färbungs-Vorganges giebt, so wird diese Anschauung doch sehr bald zu Gunsten einer chemischen Auffassung ([27] S. 555 ff., [26]) bei der Tinction der Leukocyten-Granula verlassen, und „es werden diese Färbungen, in denen das Resultat eines chemischen, dem der Doppelfärbungen ähnlichen Processes gesehen wird, für eine fundamentale chemische Differenzirung verwerthet," da Ehrlich constatirt, „dass sich jede der Körnungen nur mit Farbkörpern von ganz bestimmten Eigenschaften verbände". Von der chemischen Theorie ist Ehrlich, auch wenn er bei anderen Färbe-Methoden eine physikalische Erklärung zulässt, indess auch in seiner letzten grossen hämatologischen Veröffentlichung ([29] S. 24—26), soweit es sich um die gleichzeitige Combinations-Färbung eines Blut-Trockenpräparates handelt, nicht abgegangen: „Eine weitere Consequenz dieser Anschauung ist auch, dass alle Doppelfärbungen, die durch successive Färbung erreicht werden können, zweckmässig

durch gleichzeitige Combinations-Färbung zu ersetzen sind, wenn die chemische Natur des Färbungs-Vorganges feststeht. Im Gegensatz hierzu spielen bei allen Doppelfärbungen, die ausschliesslich auf dem Wege der successiven Färbung zu erreichen sind, mechanische Momente mit."

„Für die Färbung des Blut-Trockenpräparates handelt es sich ausschliesslich um rein chemische Färbungs-Vorgänge, und daher ist hier die Anwendung der polychromatischen Combinations-Färbung in allen Fällen möglich."

Diese Anschauungsweise ist für die ganze Richtung, in der von Ehrlich und seinen Schülern auf dem Gebiete der Leukocyten-Lehre weiter gearbeitet wurde, entscheidend gewesen. Es baut sich also bei Ehrlich auf der constant auftretenden Differenz der Färbung der Granula bei Simultanfärbung, vor Allem mit den heterogenen, sogenannten „neutralen Farb-Gemischen" der chemische Vorgang des Färbe-Processes auf, andere Stützen für diese Auffassung werden nicht beigebracht und zum Mindesten wichtige Arbeiten gegentheiliger Ansicht, wie die von Gierke[35] nicht berücksichtigt. „Was andere Unterscheidungs-Merkmale zwischen den einzelnen Körnelungen anlangt, so lassen sie weiterhin

1. in ihrem Verhalten gegen Lösungsmittel (Wasser, Säuren, Alkohol, Glycerin u. s. w.),
2. in ihrer Grösse, Form und Lichtbrechung,
3. in der Beeinflussung durch höhere Temperaturen (100° bis 180° C.),
4. in der Vertheilung im Zellleibe

constante Differenzen erkennen. — So interessant auch diese Verschiedenheiten im Allgemeinen sind, so bieten sie doch für ihren histologischen Nachweis nur wenig Anhaltspunkte; hierfür ist eben ausschliesslich die Farben-Analyse zu verwerthen, durch die es mit Leichtigkeit gelingt, die einzelnen Körnungen von einander zu trennen und sie und ihre Träger bis zu ihren Ursprüngen, den blutbereitenden Organen, zu verfolgen."[27]

Auf diesem mikrochemisch-farbenanalytischen Verhalten der Leukocyten-Granula, welches späterhin allein bei der Beurtheilung in Betracht gezogen wurde, gründet sich nunmehr Zusammen-

gehörigkeit, bezw. Gleichheit oder Verschiedenheit der Granula, und auf dieser Basis wurde eine weitgehende Classification der Granula vorgenommen; von ihr sei weiter unten die Rede. Zunächst sei Einiges über die physiologische und morphologische Stellung und Bedeutung der verschiedenen Granula-Arten nach der Lehre Ehrlich's berichtet.

Ehrlich [25], [27] bezeichnet die Körnungen in den Leukocyten als specifische Granulationen, die im Innern der betreffenden Zellen entstanden und als das Product einer specifischen secretorischen Zellthätigkeit anzusehen sind. Es sind Secret-Granula. Jeder Leukocyt ist befähigt, nur eine einzige Sorte von Granulis zu produciren. Aber bereits bei seinen ersten Untersuchungen muss Ehrlich zu Gunsten seiner Hypothese mit den Thatsachen einen Compromiss schliessen.[25] In einem Trockenpräparat vom Kaninchen-Knochenmark färbten sich in Indulin-Eosin-Glycerin Granula innerhalb einer Zelle schwarz und roth. Da die schwarze Färbung bei Fixation mittels hoher Hitzegrade der rothen wich, so wird daraus der Schluss gezogen, dass „die Indulin-Färbung nur auf dem grösseren Wassergehalt und damit auf den grösseren Intermicellar-Räumen der betr. Granula beruhe. Es stellen somit die weniger dichten, wasserreicheren β-Granulationen einen unfertigen Zustand, eine Vorstufe vor, die α-Granulationen aber entsprechen einer zur vollkommenen Entwicklung gelangten organischen Körnung; auf Grund dieser Annahme erklärt sich ungezwungen das gleichzeitige Vorkommen beider Körnungen in einer Zelle". Diese Erfahrung hatte zur Folge, dass als allein gültige und für die Diagnose und Classificirung der Leukocyten-Granula verwerthbare Fixation eine solche bei 107°—120° C. verlangt wurde. Und — „mittels der Trockenmethode bleibt die chemische Individualität des einzelnen Kornes gänzlich unbeeinflusst, sodass alle chemischen Differenzirungs-Versuche an einem nahezu unveränderten Object geschehen ([29] S. 84).

Es stellen die Granula des Leukocyten nach Ehrlich[29] ein für jede Leukocyten-Art typisches Stoffwechselproduct — Reservestoffe — dar, oder, wie wir die Definition vielleicht richtiger fassen dürften, durch das typische Stoffwechsel-Product wird die Art-Eintheilung der Leukocyten erst bedingt. — Der einzige Zweck dieses secernirten Stoffwechsel-Productes im ausdrücklich hervor-

gehobenen[28 29] Gegensatze zu der Altmann'schen Bioblasten-Theorie ist, ausgestossen, an die Umgebung abgegeben zu werden (und hier seine Wirksamkeit zu entfalten) oder der Zelle als Reserve-Material zu dienen. Die Granula spielen also innerhalb der Zelle keine active Rolle. Dass sie nur etwas Secernirtes darstellen, wird gestützt einmal durch den Umstand, dass sich bei bestimmten Thierklassen als Analoga der Granula Gebilde von ausgesprochener Krystallform vorfinden, andererseits durch das Unterbleiben einer Granula-Bildung in dafür ursprünglich bestimmten Zellen bei bestimmten pathologischen Processen und endlich durch die Erscheinung, dass Granula nur in den Zellen des Blutes enthalten sind, welche zur Auswanderung bestimmt und befähigt sind.

Die Bildungsstätte der granulirten Leukocyten ist das Knochenmark; hier finden sie sich am zahlreichsten, hier gehen die Zelltheilungen der granulirten Leukocyten vor sich. Somit ist im Knochenmark ebenfalls der Entstehungsort der Granula zu suchen. Mit der „Reifung" der Zelle, die sich nach Ehrlich im Wesentlichen an der Form des Kernes documentirt, entstehen und „reifen" die Granula. Mit der Umbildung der mononucleären zur polymorphkernigen oder polynucleären Zelle geht eine Vermehrung der Granula einher[27], andererseits „reifen"[29] die bereits gebildeten Granula. Es herrscht nehmlich bei den „jungen" Granulis, z. B. bei den pseudo-eosinophilen Granulis der mononucleären Zellen des Meerschweinchens eine basophile Quote vor, deren Beimengung sich allmählich verliert, um schliesslich ganz zu verschwinden; hieraus zieht Ehrlich den gewagten Schluss, dass es möglich sei, an einem isolirten Granulum zu entscheiden, ob es einer jungen oder alten Zelle angehört hat. Hirschfeld[42] dagegen nimmt, wenigstens für die neutrophilen Zellen des Menschen, bei derartigen Protoplasma-Reifungsvorgängen an, dass die Zustände, in welchen neutrophile Granula auftreten, von jenen, in welchen noch basophile vorhanden waren, durch ein ungekörntes Zwischen-Stadium getrennt sind.

Dieselbe Deutung der Jugend giebt Ehrlich den Arnold-schen[6] Befunden vom Auftreten basophiler Granulationen in eosinophilen Zellen. In der von der typischen abweichenden Färbung erblickt Ehrlich somit nur einen Ausdruck dafür, dass in

besonderen Fällen die morphologische Zellreifung in einem schnelleren Tempo erfolgen kann ale die der Granula.

Vergleichende Untersuchungen führten nun zu dem zweifellos sehr interessanten Resultat, dass es farbenanalytisch in der Hauptsache 2 Gruppen von granulirten Zellen giebt, welche durch die ganze Wirbelthierreihe verfolgbar sind, erstens solche mit „Specialgranulis", d. h. Zellen mit Granulis, die für bestimmte Thierspecies ein charakteristisches Merkmal darstellen, wie die neutrophilen für Mensch und Affe, die pseudo-eosinophilen für Kaninchen und Meerschweinchen u. s. w., so dann eine zweite Gruppe von Knochenmarkszellen, die sich bei allen Wirbelthieren vom Frosch bis Mensch vorfinden, die also ein uncharakteristisches gemeinschaftliches Gewebselement darstellen; hierher gehören die eosinophilen und die Mastzellen. Alle Arten der Special-Granula haben das Gemeinsame, dass sie sich in sauren, bezw. neutralen Farbstoffen färben, zu den Farbbasen jedoch eine weit geringere Verwandtschaft zeigen (Ehrlich[29] S. 74), sowie nach Pappenheim, dass sie bei Hämatoxylin-Färbungen, wahrscheinlich durch deren Alaungehalt, verschwinden und nicht mehr zur Darstellung gebracht werden können. — Beide Hauptgruppen stehen normalar Weise in einem bestimmten absoluten und relativen Verhältniss zu einander und zu den übrigen Elementen des Blutes.

Eine Ausführung darüber, wann und wodurch eine Aenderung dieses Verhältnisses eintritt, kurz eine Ausführung über die Frage der Leukocytose, welcher Art sie auch sein mag, würde hier zu weit führen. Erwähnt sei nur, dass es eine Consequenz seines Standpunktes von der alleinigen Entstehung der granulirten Leukocyten (nicht einmal mit Ausnahme der Mastzellen) im Knochenmark ist, dass Ehrlich jegliches Auftreten der granulirten Leukocyten als die Folge eines Auswanderungsvorganges der betr. Leukocyten-Art auf einen chemotactischen Reiz hin ansieht, oder mit anderen Worten, dass jegliche, allgemeine oder locale, neutrophile oder eosinophile Leukocytose eine Function des Knochenmarkes darstellt, im Gegensatz zu der Müller-Rieder'schen Lehre[57] von einer im Blute stattfindenden Umwandlung der neutrophilen in eosinophile und deren Ablagerung im Knochenmark, ebenso im Gegensatz zu der Biesiadecki[22]-

Löwit'schen[54] Lehre von der Leukämie und im Gegensatz zu der A. Schmidt'schen Annahme von der localen Entstehungs- und Vermehrungsmöglichkeit der eosinophilen Zellen.

So viel von der Ehrlich'schen Lehre von der Farbenanalyse und den granulirten Leukocyten. Auf dieser Basis von dem Werth und der entscheidenden Bedeutung der Farbenanalyse für die Classification der Granula und auf der Lehre von der Specifität der secernirten Granula ist von Ehrlich's Schülern weiter gearbeitet worden; vor Allem in zweierlei Richtung, nehmlich einmal mittels neuer Farbstoffe oder Farbstoffcombinationen neue specifische Granulationen bei verschiedenen Thieren aufzufinden, andererseits die Möglichkeit, mittels der Farbenanalyse jede Leukocytenart mit Leichtigkeit bestimmen zu können, für ein tieferes Eindringen in die am Blute sich documentirenden physiologischen und pathologischen Erscheinungen zu verwerthen, mögen die letzteren in Krankheiten des Blutes und der blutbereitenden Organe selbst ihre ätiologischen Momente haben oder hier nur einen symptomatischen Ausdruck entfalten.

Zu den schon früh von Ehrlich eingeführten 5 Arten von Granulationen,

den α = eosinophilen,
β = indulinophilen = amphophilen = pseudo-eosinophilen (Kaninchen),
γ = basophilen Mastzellen,
δ = feinen basophilen,
ε = neutrophilen des Menschen

sind später bei den Vögeln 2 nebeneinander vorkommende specifische Granulationen hinzugetreten, die beide oxyphil sind und von denen die eine in Krystallform, die andere in Körnchen dem Protoplasma eingelagert ist. Dazu kommen die den eosinophilen Zellen ähnlichen „nigrosinophilen" Zellen Kurloff's[29] (S. 57).

Eine grosse Reihe neuer Granulationen, welche Hirschfeld[42] bei verschiedenen Säugethieren gefunden hatte, veranlassten ihn zur Aufstellung folgender Granula-Arten:

I. Acidophile Granula,
a) eosinophile,
b) indulinophile,

c) Aurantia + Eosin
d) Eosin + Indulin } aufnehmende Mischformen.

II. basophile Granula

a) δ-Granula, sie geben bei Einwirkung starker Extrahentien ihre Farbe ab,

b) γ-Granula; sie behalten bei Einwirkung starker Extrahentien ihre Farbe.

III. neutrophile Granula (Triacid)

a) solche, die nur Methylgrün + Säurefuchsin aufnehmen (Mensch, Hund),

b) solche, die Methylgrün + Säurefuchsin und Methylgrün + Orange noch dazu aufnehmen. (Schaf, Ziege, Rind, Schwein, Ratte.)

IV. Mischformen (amphophile nach Ehrlich)

a) solche, die sich in sauren und basischen Farben tingiren, nehmen aus Gemischen saurer Farben Indulin auf;

b) solche, die sich in neutralen und sauren Farben tingiren, nehmen von Gemischen saurer Farben Aurantia + Eosin auf.

Eine von Grünwald[37] aufgestellte Granula-Art des Menschen, welche er als „hypoeosinophile" bezeichnet, und die sich von den ächten eosinophilen durch grössere Feinheit des Kornes, leichte Zerstörbarkeit und Neigung, auch bestimmte neutrale Farben aufzunehmen, unterscheidet und welche sowohl in uni- wie in multinucleären Zellen sich vorfindet, kann, wie Bettmann[21a] auseinandersetzt, um deswillen den vorgenannten Arten nicht als gleichwerthig für die Eintheilung benutzt und erachtet werden, da diese Granulasorte nach einer anderen Methode als nach der Ehrlich'schen gewonnen wurde.

Bevor ich auf die Ergebnisse anderer Autoren über die Bedeutung und Entstehung der Leukocyten-Granulationen komme, sei es mir gestattet, ohne auf Vollständigkeit Anspruch machen zu wollen, einen kurzen Ueberblick über die Vorstellungen von der chemischen Zusammensetzung der Granula zu geben. Die Anschauungen über diesen Punkt haben mit dem Berichte Ehrlichs über seine Methode des Bluttrocken-Präparates eine

vollkommene Umwandlung erfahren, ohne dass man allerdings nunmehr zu einer positiven chemischen Analyse irgend einer Sorte der specifischen Granulationen gelangt wäre; zu erwähnen ist ferner, dass, ausser einer Pappenheim,[62] (S. 137) entnommenen Angabe, dass die neutrophilen Granula auf Grund von farbenanalytischen Untersuchungen von Posner und Lilienfeld aus eisenfreiem Nucleo-Albumin bestehen, eingehendere Betrachtungen über die chemische Beschaffenheit nur an den eosinophilen Körnungen angestellt wurden. Vielleicht bietet aber die der von Held[41a] für die Differenzirung der Granula der Nerven-Zellen angewandten im Princip ähnliche Kochsalz-Extractions-Methode Unna's 84[a] oder ihr nachgebildete Methoden Aussicht, in die feinere chemische Constitution des Protoplasma einzudringen. Unna selbst glaubt, mittels seiner Methode es wahrscheinlich gemacht zu haben, dass auch der Mastzellenkörnung Eiweiss-Substanzen zugehören, die sich in Kochsalzlösung lösen und die er für Paranucleoproteide hält. Die Mehrzahl der Autoren in der Zeit vor dem Ehrlich'schen Bluttrocken-Präparate, also bis etwa zum Jahre 1880, sah in den eosinophilen Granulis Fettkörnchen (Virchow, citirt nach Müller[59], Mosler, citirt nach Spilling[81], Ponfick[67]), einige nahmen eine Hämoglobinnatur an (Ponchet[66], Semmer[80]). Ehrlich[25] und Schwarze[79] wiesen zuerst überzeugend nach, dass beide Annahmen nicht zutreffend sein konnten, Ehrlich lehnte ferner auch die Eiweissnatur für die eosinophilen Granula ab; es vermochte Schwarze schliesslich nur anzugeben, dass die eosinophile Substanz wasserhaltig sei, dass sie in Wasser quelle und dass sie bei hohen Temperaturen (über 160 °C.) eine halbe Schmelzung erleide, derart, dass die normal isolirte Körnung hierbei zu einer homogenen, wachsartigen zusammen sickert. — Seitdem sind von der Ehrlich'schen Ansicht nur ganz vereinzelt abweichende Angaben gemacht worden. Litten[52] beobachtete in zwei Fällen im leukämischen Blute grosse Markzellen mit glänzenden Körnungen, die er nach verschiedenen Reactionen als fetthaltig ansehen musste, und die er als eine Fettdegeneration weisser Blutkörperchen deutete; Bannwarth[17] glaubt in den Granulis des eosinophilen Zellen Hämoglobin oder ein Derivat desselben

vor sich zu haben, das entweder in gelöstem Zustand aus den benachbarten rothen Blutkörperchen aufgenommen wird oder in den Zellen selbst autochthon entstanden ist, Rindfleisch[73] hält es für möglich, dass die eosinophilen Zellen Vorstufen der Haematoblasten sein können; auf Pappenheim, der ebenfalls eine „hämoglobinoide" Natur vertritt, sei weiter unten eingegangen; J. Weiss[88] glaubt, mittels einer von den Botanikern angewandten, bei Gegenwart der Skatolgruppe mit Vanillinlösung - Schwefelsäure - Ferrisulfatlösung eintretenden Reaction die Eiweissnatur der eosinophilen Granula (Blaufärbung) dargethan zu haben. Ehrlich[29] (S. 91) selbst hat sich zuletzt folgendermassen geäussert: „Entsprechend dem Charakter der Granula als specifische Zell-Secrete müssen die einzelnen Arten auch in ihren chemischen Eigenschaften von einander scharf zu scheiden sein. Die Granula der Blutkörperchen scheinen von einer relativ einfachen chemischen Zusammensetzung zu sein. Insbesondere haben wir Grund zu der Annahme, dass die krystallinischen Körnungen aus einer einzigen chemischen Verbindung bestehen, die gar nicht einmal hoch organisirt zu sein braucht, sondern ähnlich wie etwa Guanin, Fett, Melanin u. s. w. ein relativ einfacher Körper zu sein scheint.

Die übrigen Granula werden allerdings wohl eine complexere Zusammensetzung haben und vielfach ein Gemenge chemisch verschiedenartiger Stoffe darstellen. Die complicirtesten Granula sind wohl die eosinophilen, die, wie an anderer Stelle schon betont, ja auch histologisch von höherer Structur sind, indem eine peripherische Randschicht deutlich vom centralen Theil des Körnchens zu unterscheiden ist." Zu erwähnen ist, dass nach Barker[18] die eosinophilen Körnelungen auch eisenhaltig zu sein scheinen. Ein Eisengehalt, und zwar in Form einer Eisen-Eiweissverbindung wird auch von anderen Autoren angenommen, zumeist in der Weise, dass die eosinophile Substanz Beziehungen zum Haemoglobin habe.

So erzwingt nach Przewoski[69] die der Hämoglobinfärbung ähnliche Färbung mit Anilinfarben der eosinophilen Granula die Behauptung, dass sie wohl aus einem Derivate des Hämoglobins oder doch aus einem Stoffe, der, auf einer noch niedrigeren Stufe der Synthese von Eiweiss mit Eisen (Hämatogen?) stehend,

gepaart sind. Es dienen die eosinophilen Zellen als Hülfsorgane bei der Blutbildung. Sie synthesiren die niederen Verbindungen von Eiweiss mit Eisen, welche dann in ihren Körnchen enthalten sind. Dieses niedere Product geht später auf diese oder jene Weise in das Blutplasma über und von hier aus wird es dann von den rothen Blutkörperchen für die Hämoglobinbildung verwerthet.

Andere Autoren bringen die eosinophile Substanz mit Kern-Elementen in Verbindung; so berichtet Tettenhamer[83] nach seinen Untersuchungen an Salamandra maculata, dass durch Vermehrung des Chromatins degenerirender Zellen acidophile Substanz gebildet wird, die durch Phagocytose in den Zellleib von Leukocyten übertritt und sich hier als acidophile Körnelung darstellt; gestützt auf diese Befunde nimmt er dieselbe Aetiologie eosinophiler Substanz für die eosinophilen Granula der Knochenmarkszellen bei Meerschweinchen, wie für die eosinophilen Zellen bei pathologischen Processen an. Aehnlich entstehen sie nach Sacharoff[74] bei Säugern und Vögeln immer nach demselben Process der Phagocytose von aus Erythrocyten (Haematoblasten) herausfallenden Elementen (bei den Säugern aus den Kern-Körperchen) des Kerns. Diese Elemente bestehen aus Para-Nuclein oder aus degenerirendem Nuclein (?!). Auf die Betheiligung des eigenen Kernes greifen zurück Bogdanoff, Löwit und Pappenheim. Nach Bogdanoff[23] geht die Bildung des eosinophilen Materiales von der chromatischen Substanz der Kerne aus und zwar insbesondere von den Nucleolen; die chromatische Substanz vermag nehmlich zwei Metamorphosen durchzumachen, die eine in Haemoglobin, die andere in eosinophile Substanz; seiner Ansicht nach hat man es sowohl in Nucleolen wie in den eosinophilen Granulis mit Stoffen zu thun, die dem Vitellin nahe stehen.

Endlich seien hier die Löwit'schen[53] Befunde angeführt. Nach ihm stellen die eosinophilen Körner in den Leukocyten des Flusskrebses auf Grund verschiedener Reactionen eine eisenhaltige, den Globulinen angehörige Eiweissverbindung dar. Sie werden aus einem vorher homogenen Protoplasma unter Vermittelung von aus den Zellkernen heraustretenden Körpern („pyrenogenen Körpern") um diese herum secernirt, wobei sie, gleichzeitig an

Menge zunehmend, aus feinsten Körnchen zu körner- oder tropfenähnlichen Gebilden heranwachsen. Sie stellen somit einzellige, bewegliche Drüsen vor, deren Ruhezustand dann eingetreten ist, wenn wir homogenes Protoplasma ohne pyrenogene Körnchen oder einen mit Körnern vollständig erfüllten Protoplasmaleib vor uns haben. v. Scarpatetti[77], der an frischem Material mittels mikrochemischer Reactionen die Natur der eosinophilen Granula zu ermitteln suchte, kommt zu dem Ergebniss, dass seine Untersuchungen einen bestimmten Schluss auf die chemische Bedeutung der α-Substanz nicht zulassen. Ich komme nunmehr zu den umfangreichen Aufsätzen Pappenheims[61–64].

Vorweg sei erwähnt, dass P. in den oxyphilen (insbesondere den eosinophilen) Granulationen eine dem Hämoglobin verwandte Eiweiss-Verbindung erblickt, die sich ebenfalls, wie das Hämoglobin selbst, mit Hilfe des eisenhaltigen Nucleines der Zellkerne bildet ([61] S. 640, [62] S. 137). Diese Verwandtschaft zwischen Hämoglobin und oxyphilen Granulationen glaubt P. einmal aus ähnlichem tinctoriellen Verhalten nach Fixation bei verschiedenen Hitzegraden annehmen zu müssen; und wenn er sagt, dass die oxyphile Substanz eine Art Vorstufe des Hämoglobins sei, so soll damit keineswegs ausgedrückt sein, dass das Hämoglobin aus dem Eiweiss der oxyphilen Granulationen hervorgehen muss; der andere Grund ist der, dass er aus Bildern an andern Leukocytenarten sah, dass Hämoglobin, welches von aussen aufgenommen wurde, natürlich ebenfalls mit Zuthun der specifischen Potenz des Kernes, in oxyphile Granulationen umgewandelt und verarbeitet wurde, sodass auch hier die Granula thatsächlich ursprünglich Producte nutritiver Stoffwechsel-Vorgänge sind. P. nimmt demnach, wie er es auch für die rothen Blut-Körperchen thut, einen zweifachen, homoplastischen und heteroplastischen, Modus der Entstehung und Vermehrung an, einmal Art-Erhaltung durch Theilung und dann Neubildung aus bisher nicht oxyphil granulirten Zellen auf trophische Weise durch Zufuhr, Aufnahme, Assimilation und Verarbeitung zu Hämoglobinderivat (62, S. 138).

P. hält sich auf das Strengste an die Ehrlich'schen Lehren; er hat sie auf das Subtilste weiter ausgebaut; er ist durchaus

Anhänger der Secretions-Theorie der Granula, der absoluten Specifität und Einseitigkeit der Granula innerhalb eines Zellleibes, und es sind, obwohl auch ihm eine rein physikalische Erklärung des Färbungs-Vorganges des Oefteren entschlüpft ([63], S. 30—35, [67]), wenn er die Chromatophilie von der Verdichtung oder Weite der Micellar-Verbände der Eiweiss-Moleküle und dem verschiedenen Diffusions-Vermögen heller und dunkler Farben abhängen lässt, alle seine Deductionen auf einer ausser Frage stehenden chemischen Annahme des Färbungs-Vorganges beim Blut-Trockenpräparate aufgebaut, wie sie denn thatsächlich auch nur bei Anerkennung dieser Basis einen Anspruch auf Beweiskraft machen können.

Voraussetzung von allem ist eine ganz bestimmte specialisirte, ganz genau einzuhaltende Technik. Ich glaube, die P.'schen Ausführungen und seine Eintheilung der Leukocyten dem Allgemeinen näher zu rücken, wenn ich seinen Ausführungen folgende Zeilen entnehme:

„Die Kerne, welche Träger der specifischen Zellenergie sind, und diese ihre Eigenschaften durch Fortpflanzung ihrer Art unverändert erhalten, sind aber in den einzelnen Arten so veranlagt, dass sie entweder basophile oder neutrophile oder amphophile u. s. w. oder gemischte Granula (Arnold) zur Abscheidung gelangen lassen können ([62] S. 114), sowohl im jugendlichen runden, wie im vorgeschrittenen polymorphen Zustand. Die Qualität der Granula in einer Zelle sind (!) demnach ein Ausdruck für den Kernchemismus, mithin nach wie vor das einzig-sichtbare Artmerkmal der verschiedenen Leukocyten". . . . .

„Diese verschiedenen Arten von Leukocyten haben sich nun durch verschiedene functionelle Inanspruchnahme, Erwerbung neuer Eigenschaften durch Anpassung auseinander entwickelt, so dass die basophilen Formen die niedrigst im System stehenden sind, dann folgen neutrophile, amphophile, indulinophile und schliesslich oxyphile; zwischen den einzelnen Arten sind dann noch diejenigen Arnold'schen Zellen einzuschalten, die noch keine total einseitige functionelle Differenzirung zur Production nur einer chemischen Verbindung erlangt haben, sondern noch verschiedene Granula abscheiden." — „Alle diese Varietäten der Leukocyten treten in zwei, von der Chromatinmenge des Kerns abhängigen Erscheinungsformen auf ([62] S. 115). Auch unter diesem Gesichtspunkt stehen am tiefsten im System die basophilen Leukocyten, denn sie vermögen sich sowohl zu oxyphilen Leukocyten wie zu Erothrocyten zu differenziren ([62] S. 118). Wie aber eine jugendliche Basophilie einen unfertigen Zustand des protoplasmatischen Eiweisses bezeichnet, welches noch keine ausgesprochene Affinität zu den sauren Farbstoffen erlangt hat, und dessen Molecularstructur noch ähnliche

Verhältnisse aufweist, wie das Karyoplasma, so finden umgekehrt in den Molekeln des ausgebildeten Eiweisses bei regressiven Verhältnissen Umwälzungen statt (was sich auch künstlich, z. B. durch Ueberhitzung, erzielen lässt), durch welche wieder der frühere basophile Zustand erlangt wird“ ([62] S. 118).

„Nun waren die oxyphilen Granulationen in der Descendenz als am höchsten stehend, die basophilen als am wenigsten differenzirt anzusehen. Zwischen ihnen liegen als ausgeprägte Uebergangsformen die neutrophilen, amphophilen und indulinophilen Zellen. Diese Uebergangsarten aber sind es nun, die einerseits den Beweis dafür zulassen, dass eine allmählich aufsteigende Entwickelung der Leukocyten bis zur Potenz der Production oxyphiler Granulationen stattgefunden hat, andererseits die Behauptung nicht unbegründet erscheinen lassen, dass zwischen oxyphilen Granulis und Haemoglobin gewisse Beziehungen bestehen“ ([62] S. 134).

Aus dem Verhalten Farbstoffmischungen gegenüber construirt nun P. an den von Hirschfeld[42] (siehe oben) mitgetheilten Befunden folgendes aufsteigende System der Leukocytengranulationen, beziehungsweise Leukocyten:

A. basophile.

B. Uebergangsformen.

1. granulationslose der Maus.
2. amphophile des Kaninchens (basophil, indulinophil, einfach oxyphil).
3. neutrophile des Menschen u. Hundes. (Methylgrün + S-Rubin).
4. indolinophile des Meerschweinchens.
5. neutrophile von Schaf, Ziege, Rind, Schwein, Ratte. (Methylgrün + S-Rubin + Orange).
6. amphophile der Katze (neutrophil und oxyphil zu in sich neutralen Farben; Methylgrün + S-Rubin + Orange. — S-Rubin + Orange oder Eosin + Aurantia).

C. oxyphile.

1. des Pferdes (Indulin + Eosin).
2. Schaf, Ziege, Rind, Schwein, Maus, Ratte, Kaninchen, Meerschweinchen, Mensch (Eosin, S-Rubin).
3. Hund, Katze (Aurantia + Eosin, Orange + S-Rubin).

Das soll also zum Beispiel ausdrücken: In der Entwickelung zum Aurantia aufnehmenden Haemoglobin hin stehen zum Beispiel die amphophilen Granulationen der Katze viel höher als die des Kaninchens. Letztere nehmen, wenn mit neutralen Mischungen oder mit Gemischen saurer gefärbt wird, allein S-Rubin oder Eosin, erstere aber S-Rubin + Orange, Eosin + Aurantia auf. Wir haben demnach von der Basophilie des Chromatins des Eiweisses der Kerne eine fortschreitende und aufsteigende Molecularentwicklung bis zur Oxyphilie, welche mit der Affinität des Haemoglobins zu in sich neutralen Farben ihren Höhepunkt erreicht."

„Diese allmähliche moleculare Umgestaltung des basophilen in oxyphiles Eiweiss und des indulinophilen in aurantiophiles, wie sie sich physiologisch in den verschiedenen chromophilen Granulationen der Leukocyten findet, kann auch durch künstliche Eingriffe, wie zum Beispiel Erhitzung erzielt werden" ([62] S. 134—137).

Nunmehr wird es uns nicht mehr erstaunen, worauf nach P. die Befunde verschiedenfarbiger Granula in einem Zellleib, da die Specifität ja gewahrt bleiben muss, hinauslaufen: auf Unreifheit, zur Not auf degenerative Veränderungen der Granula oder auf Unter- und Ueberfixation der Präparate (63). Hierbei gilt also

a) für die Specialgranulationen: Finden sich Granula verschiedenen Farbtones in einer Zelle, so sind diejenigen, die grösser und dunkler (cyanophiler) erscheinen, und die basische Componente rein oder in neutraler Verbindung enthalten, als unreif anzusehen im Verhältniss zu anderen, welche die hellere Farbe kleineren Molecularvolumens bevorzugen;

b) für die eosinophilen Granulationen: Die reifen lassen sich mit keinem basischen Farbstoff färben; im Gegensatz zum Haemoglobin nehmen sie aus einem Doppelgemisch saurer Farben den dunkleren mit grösserem Molecularvolumen auf. — Die unreifen nehmen aus Dreifach-Glycerin-Gemisch den dunkelsten Farbstoff auf, bei Triacid eventuell die violette Farbe; war ungenügend erhitzt, können sogar die unreifen aus Methylenblau-Eosin die reine basische Componente aufnehmen" ([63] S. 56, 57).

„Während man nun im embryonalen Leben in den lymphoiden, basophilen, granulationslosen Rundzellen das variabelste, tiefststehende Element cytogenen Gewebes zu sehen hat, welches zu grossen mononucleären Leukocyten, zu Riesenzellen, zu eosinophilen Zellen und zu Erythrocyten sich umzuwandeln vermag, treten im postembryonalen physiologischer Weise nur scharf geschiedene Arten in die Erscheinung" ([63] S. 68). Somit gelangt P. für die Bildung und Eintheilung der weissen Blutkörper zu folgender Theorie ([64]):

Granulationslose und jede Art der granulirten Leukocyten (= „Granulocyten") bilden durchaus parallele Reihen der Entwicklung, zwischen denen selbst Uebergänge durchaus ausgeschlossen sind; wichtig ist für das Verständniss der Eintheilung ferner, dass auf den vermuthlichen Ent-

stehungsort der betreffenden weissen Blutkörperchen bei der Bezeichnung gar keine Rücksicht mehr genommen wird. Gewissermassen durch Vererbung behält dann jede Leukocytenart ihren ganz circumscripten Artcharakter bei, und so vermag zum Beispiel die eine Art nur ausschliesslich neutrophile Granula von ganz bestimmter Beschaffenheit zu secerniren.

Jede dieser Gruppen wird nach dem tinctoriellen Verhalten der Kerne, deren Nomenclatur P. bereits früher erfunden hatte, in 2 Arten eingetheilt, in amblychromatische (= chromatinarme, grössere Kerne) und trachychromatische (= chromatinreiche Kerne). Jede Art, granulationslose wie granulirte, zeigen Altersunterschiede, die sich am Kern in der bekannten Weise durch den Uebergang von der runden zur polymorphen und polynucleären Form documentiren. Nunmehr lässt sich folgendes Schema aufstellen ([64] S. 75):

	I. Nicht granulirte (Lymphocyten)	II. Granulirte (Granulocyten) a) eosinophile b) specifische
A) Amblychromatische a) rundkernige, b) polymorphkernige, c) polynucleäre.	Makro-Lymphocyten (bei polymorphem Kern = Troje'sche lymphoide Markzellen, grosse mononucleäre Leucocyten und Uebergangszellen des normalen Blutes).	Myelocyten bei gelapptem Kern = Spilling's Uebergangsformen des leukämischen Blutes.
B) Trachychromatische a) rundkernige, b) polymorphkernige, c) polynucleäre.	Mikro-Lymphocyten.	Leukocyten s. str. bei rundem Kern = Pseudolymphocyten, bei polymorphem Kern, z. B. die gewöhnlichen neutrophilen Leukocyten.

Abgesehen davon, dass es auch nach P.'s Auseinandersetzungen mehr als fraglich erscheint, ob nunmehr eine den Thatsachen entsprechende Entwicklung festgestellt ist, wird die bereits bestehende Verwirrung in der Leukocyten-Nomenclatur noch vergrössert, da für nach den P.'schen Darstellungen ganz engbegrenzte Elemente der Name „Myelocyt" und „Leukocyt" in Anspruch genommen wird.

Es hat somit aber jedes weisse Blutkörperchen durch die farbenanalytische Diagnose seiner Granula-Art und seiner Kern-Beschaffenheit am Bluttrocken-Präparat eine ganz feste, unver-

rückbare Stellung in einem morphologischen und genetischen System erhalten, darauf fussend, dass jeder Leukocyt nur eine einzige, für ihn typische Granula-Art, die natürlich stets von derselben chemischen Zusammensetzung sein muss, zu secerniren im Stande ist. Die einzige Beweglichkeit in der Stellung im System der Leukocyten, die noch übrig bleibt, ist die an der Kernfigur sich manifestirende Alterung. Es ist in durchaus strikter und consequenter Weise die Lehre Ehrlich's von der Farbenanalyse und der ausschliesslich specifischen Secretion nur einer einzigen Granula-Sorte innerhalb einer Zelle durchgeführt worden; für jedes Granulum giebt es innerhalb eines Zellleibes nur eine einzige, durch den Färbe-Effect bestimmte Auffassungs-Möglichkeit, und jedes Granulum hat gleichzeitig gewissermaassen in der phylo- und ontogenetischen Einreihung einen ganz bestimmten Platz erhalten.

Wie weiter unten auszuführen sein wird, scheint mir diese strenge Lehre von den Granulis mit den zur Zeit allgemein üblichen Vorstellungen von der Bedeutung der Leukocyten denn doch schwer vereinbar zu sein. Wir sind gewohnt, die Leukocyten, insbesondere die granulirten, um nur einen Punkt herauszugreifen, überall da in grossen Massen auftreten zu sehen, wo eine Noxe, ganz gleichgiltig welcher Art, an den Körper herangetreten ist. Wir müssen den weissen Blutkörperchen gewiss eine ganz hervorragende Fähigkeit zuschreiben, alle möglichen Eigenschaften bei den Vorgängen, die wir als reactiven Process des Gewebes im mikroskopischen Bilde genauer verfolgen können, zu entfalten; ob dabei diese reactiven Vorgänge, in ihre letzten Feinheiten verfolgt, eine physikalische oder chemische Erklärung verlangen, kann für die vorliegende Frage ganz gleichgiltig sein. Wichtig ist nur, dass den verschiedenen Einflüssen gegenüber von Seiten der Leukocyten Genüge geschehen muss. Das ist aber nur denkbar, wenn man ihnen eine ausserordentliche Anpassungsfähigkeit im Sinne eines vielseitigen Stoffwechsels zuschreibt.

Der Stoffwechsel der Leukocyten findet nun nach der Ehrlich'schen Auffassung einen wesentlichen Ausdruck in dem Vorhandensein der Granula, welche für die betreffenden Leukocyten-Art chemisch immer denselben Stoff darstellen. Ist er dies aber, so kann er für die Beziehungen der Zelle zu ihrer

Umgebung u. dgl. nur etwas sehr Indifferentes sein; und zwar, ist das Granulum bereits secernirt, bevor der Leukocyt am Orte der Noxe auftritt, stellte es somit einen bereits secernirten Reservestoff der Zelle dar, so können wir uns ganz gut vorstellen, dass er nunmehr zu ganz speziellen Zwecken im Stoffwechsel des Leukocyten weiter verarbeitet wird; wird der Stoff aber erst am Orte oder später, jedenfalls aber unter dem Einflusse der Noxe gebildet, so muss er das stets gleichbleibende Endproduct der mannigfachsten Assimilations-Vorgänge sein. In beiden denkbaren Möglichkeiten, die sich durchaus nicht auszuschliessen brauchten, kann das Granulum sehr wohl etwas für die Zelle Specifisches sein, muss es aber unbedingt ein für den in Folge des reactiven Processes stattfindenden Stoffwechsel-Vorgang indifferenter Stoff sein. Diese, aus jenem Gedankengang sich ergebende Nothwendigkeit findet ihren chemischen Ausdruck darin, dass sich die Granula einer Leukocyten-Art farbenanalytisch alle und stets gleich verhalten. Nicht möglich aber ist, dass in chemischer und physiologischer Stellung gleiche Granula zu den allerverschiedensten reactiven Processen direct in Beziehung gebracht werden, dass sie also, im Knochenmark bereits vorgebildet, als für die Noxe specifisch reactive Substanz local in Action treten oder dass sie das specifische Resultat eines in Folge einer specifischen Noxe eingetretenen Stoffwechsels sind. Ein kurzes Beispiel auf benachbartem Gebiete mag dies erläutern. Neuere Anschauungen schreiben den Leukocyten bei Infections-Krankheiten eine gewichtige Rolle für die Erzeugung von Antitoxinen oder baktericiden Stoffen zu. Mit der Ehrlich'schen Auffassung der Secretion und gleichzeitigen Specifität der Granula ist es schwer vereinbar, diese Zellbestandtheile, die ja einen so erheblichen Volum-Procentsatz der Protoplasmamasse auszumachen pflegen, schon allein theoretisch in irgend eine directe Beziehung zu den hierbei sich abspielenden Stoffwechsel-Vorgängen zu bringen. Ganz gleich, ob wir das Blut eines normalen, im Hungerzustande oder auf der Höhe der Verdauung befindlichen Menschen oder das eines Typhuskranken oder an schwerer acuter Eiterung Leidenden oder tuberculös verändertes Gewebe vor uns haben, stets hat das Granulum der eosinophilen oder neutrophilen Zelle dieselbe chemische Beschaffenheit und es steht so-

mit vollkommen ausserhalb des Processes, wenn man nicht jene oben angegebene Erklärung acceptiren will. — Den Vorgängen gegenüber, die die moderne Theorie der Abwehrmaassregeln des Organismus bei Infections-Krankheiten den Leukocyten zuschreibt, bindet die Ehrlich'sche Lehre, zum mindesten für die Betheiligung der Granula, die Hände. — Eine Anschauung aber, die den Leukocytengranulis eine activere functionelle Stellung innerhalb der Zelle ermöglicht und ihnen eine grössere Anpassungsfähigkeit bei normalen oder pathologischen Stoffwechsel-Vorgängen offen lässt, steht auf einer breiteren Basis und vermag damit auch den modernen Lehren von den Infections-Krankheiten leichter gerecht zu werden. — Hiermit soll jedoch nicht etwa gesagt sein, dass thatsächlich die Leukocyten-Granula die Erzeuger jener Antitoxine u. dgl. sein müssten. Andrerseits aber dürften wir uns bei der Rohheit unserer Methoden nicht wundern, dass es uns noch nicht gelingt, diese Stoffwechsel-Vorgänge innerhalb der Zelle direct vor unsere Augen führen zu können. —

Wir hatten also nach Ehrlich jene indifferenten, die Art-Eintheilung der Leukocyten bestimmenden specifischen Stoffe in drei scharf getrennten Erscheinungsformen kennen gelernt; es waren die basophilen, eosinophilen und Special-Granula; als ein passives Element in der Zelle, oder wie es Altmann [1] einmal nennt, als eine „Ausschwitzung" sind sie vom activen Leben der Zelle losgelöst. Es wird also, folgen wir der Ehrlich-schen Lehre, eine directe Verbindung der specifischen Granula zu Stoffwechsel-Vorgängen, reactiven Processen irgend welcher speciellen Art nicht beobachtet; ein Nachweis, wie wohl jener indifferente Stoff der Granula zu den Noxen in Beziehung treten mag, wird nicht beigebracht; es kann unsererseits diesem Stoffe logischer Weise nur eine ausserordentliche Vielseitigkeit vindicirt werden.

Bevor ich weitergehe, habe ich nochmals ausdrücklich zu betonen, dass alle die Autoren, welche Uebergänge dieser 3 Zellformen in einander annehmen, sich in einem principiellen Gegensatz zur Ehrlich'schen Lehre befinden. Vor der Ehrlich'schen Zeit war es M. Schultze [78] (S. 17), der 1865 schrieb: „Wenn ich fein- und grobgranulierte Körperchen im Blute des Menschen unterscheide, so muss ich doch gleich hinzufügen, dass Ueber-

gänge zwischen beiden vorkommen. Aber die Uebergangs-Formen werden seltener angetroffen als die Extreme, und die Unterscheidung lässt sich daher jedenfalls rechtfertigen. Uebergangs-Formen aber wird man solche Körperchen zu nennen haben, die bei dem Ansehen und Benehmen der feingranulirten einige stärker lichtbrechende Körnchen nach Art derjenigen der grobgranulirten enthalten. Sie kommen in verschiedener Grösse vor."

Von den Klinikern ist bei ihren Blut-Untersuchungen und Blutkörperchen-Zählungen jene Lehre Ehrlich's von der Specifität und Secretion im Allgemeinen als zu Recht bestehend angenommen worden, wie ja seine Methode und Lehre den Klinikern überhaupt erst die moderne Blut-Untersuchung geschaffen hat. Arbeiten, welche sich aber einer eingehenden Nachprüfung der Frage der Specifität der Granula widmeten, sind von dieser Seite kaum vorhanden; entweder wird diese Frage überhaupt übergangen oder doch gar von einem Uebergange der einen Granula-Art in die andere als von etwas Selbstverständlichem gesprochen, und ein principieller Gegensatz zu Ehrlich so wenig empfunden, dass H. F. Müller[58] sagt: „Auch mit dem Nachweis der mitotischen Theilung der eosinophilen Zellen können wir die frühere Ansicht der progressiven Entwicklung der eosinophilen Zellen aus feingranulirten Blutzellen, wie sie M. Schultze und Ehrlich(!) annahmen, nicht für widerlegt halten, wenn wir die zweifellosen Uebergänge (M. Schultze) zwischen fein- und grobgranulirten weissen Blutzellen berücksichtigen." Als etwas Selbstverständliches, als einen Reifungs-Process finden wir diesen Vorgang ferner erwähnt in den Arbeiten von Zappert[91], Müller und Rieder[57], Janowski[45].

Im Grunde genommen musste es aber die Ehrlich'sche Theorie gefährden, wenn der Nachweis gelang, dass innerhalb eines Zellleibes Granula sich fanden, die auf seine oder Anderer Methoden der Untersuchung der weissen Blutkörperchen verschieden reagirten, die also Granula verschiedener Qualität darstellten.

Wenn Ehrlich betont, es seien ausser der Färbung noch die Löslichkeits-Verhältnisse der Granula in Betracht zu ziehen.

so behauptet neuerdings Pappenheim[62] (S. 137), dass alle Specialgranula in Hämatoxylin-Lösungen die gleiche Löslichkeit zeigten, so erwähnt v. Scarpatetti[77], obwohl er selbst aus seinen Befunden einen Schluss auf einen nicht einheitlichen Charakter der α-Substanz innerhalb eines und desselben Leukocyten nicht machen will, dass die Granula innerhalb einer Zelle sich gegen mehrere Reagentien verschieden verhielten. An dieser Stelle möchte ich wiederholen, dass auch nach meinen Resultaten bei langer Differenzirung, besonders in den „pseudoeosinophilen" Zellen die Granula einer Zelle sich constant ausserordentlich verschieden verhielten.

Was aber die farbenanalytische Untersuchung betrifft, auf die ja bei der Classification der Granula der Hauptwerth gelegt wird, so habe ich bereits der Ehrlich'schen Befunde[25] von verschieden gefärbten Granulis in einer Zelle im Knochenmark des Kaninchens gedacht. Verschieden gefärbte kleine und grosse Granula innerhalb der grobgranulirten Leukocyten im leukämischen Blut erwähnt Müller[58]; Sacharoff[74] berichtet über ausgesprochene basophile Granula in eosinophilen Zellen des Blutes der Vögel, insbesondere bei gewissen Krankheits-Zuständen.

Mit Arnold's Mittheilungen[6] über verschieden gefärbte Granula innerhalb eines Zellleibes trat die Frage in ein neues Stadium, da er an der Hand seiner Befunde Zweifel äusserte, ob nunmehr die Ehrlich'sche Auffassung von Secretion und Specifität der Granula noch voll und ganz zu Recht bestehen könne. Man hat seitdem derartigen Befunden eine erhöhte Aufmerksamkeit zugewendet und Hirschfeld[43], Bettmann[19], Fr. Müller[56], Coenen[24], Grünwald[37], wie vor Allem Arnold selbst haben neue Beiträge gebracht. Die Resultate meiner Arbeit können betreffs des Kaninchens das Vorkommen von verschieden gefärbten Granulis innerhalb einer Zelle nur als eine ganz häufige Thatsache bestätigen und den Uebergang der verschieden reagirenden Granula in einander zu einem wahrscheinlichen machen.

Mochte es nun für Ehrlich selbst nichts bedeuten, wenn Autoren vor ihm die Leukocyten-Granula innerhalb einer Zelle nicht als chemisch eindeutige Gebilde auffassten, wie Ranvier[71]

und Ponchet[66] so war seine Specifität der Granula umso gefährdeter, als er selbst bei den Berichten über seine Blutuntersuchungen mit Befunden verschieden gefärbter Granula innerhalb einer Zelle hervortrat. Es brachte Ehrlich hierfür die physikalische Erklärung, dass die Granula zwar denselben chemischen Stoff bedeuteten, und nur ihr Aggregatzustand ein verschiedener sei. Damals handelte es sich, und das ist für die Ehrlich'sche Auffassung wichtig, um eine Combinationsfärbung nur mit sauren Farben. Es ist Ehrlich damals sicherlich von einer zutreffenden Vorstellung ausgegangen, wenn er für die Differenz des Färbungsresultates physikalische Ursachen, wie grössere Intermicellarräume und reichlicheren Wassergehalt der dunkelgefärbten Granula vorbrachte. In welcher Form ist aber das Wasser in diesen „unreifen" Granulis enthalten? Ist es Wasser in einem colloidalen System? Dann wäre diese Substanz, wenn wir uns der Spiro'schen[82] Ausführungen erinnern, doch von ausserordentlicher Bedeutung, sowohl für das Granulum als Secret, wie für den Färbevorgang als solchen. Es hat, wenn sein quantitativer Gehalt überhaupt das Einzige ist, was sich in diesen, von den meisten als Eiweisskörper gedachten Körnern bei der Hitzefixation ändert, eine derartige Bedeutung, dass die Individualität des Kornes in solchem Grade verändert wird, dass es nun eben Indulin nicht mehr aufzunehmen vermag. Ehrlich lässt es auch späterhin unentschieden, ob jedes Granulum diesen „unreifen" Zustand durchmachen muss, eine Annahme, welche dann aber nur für jene Zellen gelten kann, welche, wie es Ehrlich für die neutrophilen annimmt, aus mononucleären und Uebergangsformen sich erst zu polynucleären entwickeln, nicht aber für jene, welche, wie er es für die Mehrzahl dieser Elemente annimmt, durch Theilung entstehen. Immerhin können wir uns erklären, dass mit einer grösseren Dichtigkeit der Substanz das Granulum seinen Färbeeffect dahin ändert, dass in „reifem" Zustande nur noch eine Eosinfärbung stattfindet und dass trotzdem die Secretion eine specifische sei; damit aber müssen wir der chemischen Theorie des Färbeprocesses bereits eine grosse Concession machen, auf deren Zuverlässigkeit aber die Lehre von der „Specifität" der Granula erst aufgebaut war. Halten wir nun an einer chemischen Theorie des Färbevorganges fest, so

können wir uns zwar wohl eine Amphophilie des Granulums vorstellen, wenn wir eine amphotere Reaction der Granulasubstanz annehmen; unmöglich aber können wir an einer einseitigen Specifität der Granula innerhalb einer Zelle festhalten, wenn das eine Granulum basophil, das andere acido- oder neutrophil ist.

Seit Jahren hat sich auf das Eingehendste Arnold mit der Frage der weissen Blutkörper beschäftigt; er hat wohl kaum einen Punkt unberücksichtigt gelassen, der zur Klarstellung dieser Gewebselemente beitragen könnte. Der Polymorphismus und die relativ grosse Selbständigkeit dieser interessanten Zellen mussten andererseits Untersuchungen, die sich auf das Wesen der Zelle, ihr Innenleben und die Beziehungen zur Umgebung, überhaupt richteten, besonders bedeutungsvolle und weittragende Ein- und Ausblicke gestatten; es sind die hierbei gewonnenen Ergebnisse für Arnold thatsächlich auch der praktische Ausgangspunkt für seine Untersuchungen über Architektur und Structur der Zellen im Allgemeinen geworden. Mittels der verschiedensten Untersuchungsmethoden, Fixirung, Färbung, biologischen Experimentes ist Arnold an das Leukocytenproblem herangetreten.

Arnold[5] hatte zunächst mittels Einführung von zur späteren Beobachtung besonders geeigneter Fremdkörper (Hollundermarkplättchen) in bestimmte Körpergewebe gezeigt, dass Wanderzellen, die nur hämatogenen, nicht histiogenen Ursprungs sein konnten, in morphologisch verschiedener Gestalt aufzutreten vermögen; hierbei stellen sie allerdings nahe Verwandte dar, welche offenbar für gewisse Vorgänge, wie die Phagocytose, eine homologe active Rolle spielen, so dass somit verschiedene Färbbarkeit, Gestalt oder Ein- und Mehrzahl des Kernes anscheinend keine tiefgehende Bedeutung besitzen, also auch Polymorphismus des Kerns nicht Untergang bedeutet; nachdem er ferner nachgewiesen hatte, dass Uebergangsformen etwas Häufiges sind und Uebergänge thatsächlich häufig vorkommen, hat er später[6] doch auch eine Classification der Leukocyten, insbesondere der Knochenmarkzellen, nach äusseren Merkmalen vorgenommen. In Folge des Vorhandenseins des ausserordentlichen Wechsels der Formen hat er allerdings wiederholt die angegebene Eintheilung mit dem Fragezeichen versehen, ob sie thatsächlich auf tiefer gehenden Differenzen basire. Zu einem vollständig befriedigenden System

führen ihn weder die Heranziehung der Unterschiede der Grösse der Zellen, der Mengenverhältnisse von Kern zu Protoplasma, der Reaction auf Farbstoffe, der Kerngestalt, die Erörterung der Frage der Herkunft der verschiedenen Zellformen, noch endlich die der Körnungen des Protoplasmas der Leukocyten.

Arnold[6] unterscheidet am Knochenmark des Kaninchens und ähnlich an dem des Menschen folgende Formen:

1. Kleine Lymphoyten mit rundem, dunklem, fast den ganzen Zellleib ausfüllendem Kern; sie sind zahlreicher nur im rothen Mark enthalten.

2. Grössere Zellen mit gleichfalls schmalem Protoplasmasaume; die runden, selten eingebuchteten Kerne sind bald dunkler, bald heller gefärbt.

3. Zellen von wechselnder Grösse mit breitem Protoplasmasaume; die bald heller, bald dunkler gefärbten Kerne sind rund, eingebuchtet, hufeisen- oder korbförmig.

4. Zellen mit bald breiteren, bald schmäleren Protoplasmasäumen und polymorphen, seltener getheilten Kernen (beim Menschen häufiger polynucleär).

5. Die verschiedenen Formen von Riesenzellen.

Es entsprechen also die sub 1 und 2 genannten Formen den sogenannten „Lymphocyten", die sub 3 und 4 erwähnten den granulirten Elementen des Knochenmarkes. Dabei bestehen aber zwischen mehreren Zellarten des Knochenmarkes so zahlreiche Zwischenformen, dass eine Umwandlung der einen Form in die andere angenommen werden muss[6].

Will ich nunmehr erörtern, ob sich die Arnold'schen Resultate mit der Ehrlich'schen Lehre von der Specifität der Granula und der alleinigen Auffassung derselben als secernirte Stoffwechsel-Producte in Einklang bringen lassen, so muss ich ausführlicher auf Arnold's Untersuchungen über die Granulationen der Leukocyten und seine Schlüsse aus diesen eingehen. Es wäre also zu berichten über Arnold's Ergebnisse bei den üblichen Succedan- und Simultanfärbungen am trocknen und feuchten Präparat, über die Resultate der Färbung am lebenden und überlebenden Object, über seine Macerations-Versuche und endlich über die diese Frage betreffenden biologischen Experimente, bezw. Erfahrungen am pathologischen Objecte; Arbeiten,

welche über analoge Befunde berichten, sollen an den geeigneten Stellen Erwähnung finden.

Während Ehrlich mehr auf die Gleichheit seiner Resultate Werth legt, die er bei Heranziehung einer Methode erhielt, hebt Arnold zahlreiche Differenzen der Granula an jenen Zellen hervor, welche nach Auffassung Ehrlich's und seiner Schule durch die angeblich gleiche chemische Affinität der Granula ihr diagnostisches Merkmal erhalten hatten.

Arnold[6,7] unterscheidet beim Kaninchen ebenfalls vor Allem zwischen grob- und feingranulirten Zellformen; von beiden Sorten färbt sich ein Theil mit sauren, ein andrer Theil mit basischen Farbstoffen, im letzteren Falle eine kleinere Menge metachromatisch.

„Füllungszustand der Zellen, Vertheilung, Lagerung, Grösse, Farbenintensität aller Arten der Granula weisen erhebliche Differenzen auf, nicht nur an verschiedenen Zellen, sondern auch an den innerhalb ein und desselben Zellleibes enthaltenen Körnern; Vorkommnisse, wie der Befund von kleineren Körnern mit wechselndem Farbenton, sowie derjenige von grösseren eosinophilen Granulis in Zellen vom Charakter der neutrophilen weisen auf die Möglichkeit einer Umwandlung der feineren Körnchen bei Kaninchen und Menschen, von denen die ersteren mehr acidophile, die letzteren mehr neutrophile Eigenschaften zu besitzen scheinen, zu grösseren sogenannten eosinophilen Granula hin". Wenn somit nach Arnold[6] derartige Uebergangsformen, wie sie sich durch die Differenzen der Grösse und der Farbennüance kundgeben, es wahrscheinlich machen, dass Granula verschiedener chemischer Affinität für Farbstoffe innerhalb einer Zelle getroffen werden, so fand diese Auffassung eine bedeutungsvolle Stütze durch den Nachweis von Granulis von total verschiedener Farbstoff-Affinität innerhalb eines Zellleibes also insbesondere durch das gleichzeitige Vorkommen von basophilen und acidophilen Körnern in einem Zellkörper. Arnold konnte derartige Befunde an feuchten und an Trockenpräparaten nachweisen; entweder war die Vertheilung dieser verschieden reagirenden Granula ganz ungesetzmässig, bunt durcheinander, andere Male bestanden bestimmte Lagerungsverhältnisse beider Sorten ([7] S. 6—8); nur würde unter Bezugnahme auf die Fischer-

schen Färbungs- und Differenzirungs-Versuche zu berücksichtigen sein, ob nicht die Arnold'sche Anschauung, dass, wenn in derselben Zelle die grossen Granula ausschliesslich roth, die kleinen blau gefärbt sind, daraus auf das Vorhandensein verschiedener Arten geschlossen werden darf, eine gewisse theoretische Einschränkung erleidet. Ganz gewiss aber darf aus all' diesen Befunden noch nicht auf eine Umwandlung der verschiedenen Granula-Arten in einander geschlossen werden. — Wichtig ist ferner der Befund Arnold's von groben, acidophilen Granula in haemoglobinhaltigen Knochenmarks-Zellen und der einer feinen basophilen Granulirung in kernhaltigen rothen Blutkörperchen. Ein häufiges Vorkommen von erheblichen Differenzen der Granula eines Zellleibes, hinsichtlich der verschiedensten Richtungen, insbesondere des Farbenwechsels, konnte endlich Arnold[9] (S. 843) an den eosinophilen Zellen bei Fröschen machen, die an der sogenannten Frühjahrsseuche litten. Was die Befunde des gleichzeitigen Vorkommens von baso- und acidophilen Granula von gleicher Grösse einer Zelle anlangt, so verweise ich einmal auf meine oben gemachten Angaben zurück, ferner auf die Literaturangaben hin, die Arnold in seiner zuletzt erwähnten Arbeit[9] macht, und möchte nur nochmals auf einige frühere Mittheilungen zurückkommen.

Bei Vergiftungen, die zu degenerativen Veränderungen des Knochenmarks führten, konnten Bettmann[19] (Vergiftung mittels Arsen), und H. Müller[56] (Vergiftung mittels Ricin) in den Knochenmarks-Zellen des Kaninchens das Auftreten verschieden gefärbter Granula innerhalb einer Zelle beobachten, ferner Bettmann[20] ähnliche Erscheinungen bei eosinophilen Zellen, die in Cantharidenblasen und im asthmatischen Sputum auftraten. Ueber ausserordentlich variable Granulabefunde berichtet Grünwald[37] an Zellen im Auswurf und in entzündlichen Ausscheidungen des Menschen. An dem verschiedenartigen Verhalten dieser granulirten Zellen führt Grünwald (S. 326ff.) in 11 Uebergangsformen von den eigentlichen eosinophilen über die „hypo-eosinophilen" zu den neutrophilen Zellen und von diesen letzteren zu solchen mit ausgesprochener Färbbarkeit sowohl in Eosin als Methylenblau. Er gelangt auf Grund seiner Ergebnisse zur Vorstellung, „dass alle diese Granula nichts principiell

Verschiedenes sind, sondern unter uns noch unbekannten Einflüssen Umwandlungen erleiden können. Man hat den bestimmten Eindruck, auch bei den eosinophilen Körnchen, nicht constanten Grössen, sondern einer labilen Masse gegenüberzustehen, und wird um so mehr Schlüssen, welche aus dem zufällig hier mehr, dort weniger häufigen Antreffen einer bestimmten Form gezogen werden wollen, mit höchstem Misstrauen begegnen". Einen geradezu ausgesprochenen Gegensatz zur Ehrlich'schen Auffassung der Amphophilie der β-Granulationen begegnen wir ferner neuerdings bei Coenen[24]; nach ihm enthalten die pseudo-eosinophilen Zellen, wie sie im experimentell erzeugten pleuritischen Aleuronatexsudat des Kaninchens auftraten, zwei ausgesprochen differente Sorten von Granulis, nehmlich zahlreiche, in Säuren leicht lösliche, oxyphile und spärlicher stehende, feinere basophile Granula.

Will man gegen diese Befunde einwenden, dass es sich bei diesen Farbdifferenzen der Granula zumeist um pathologische Objecte handelt, diese Befunde also noch nicht gegen das Axiom von der Specifität der Granula verwerthbar wären, so sei es mir an dieser Stelle gestattet, auf die ganz analogen Befunde zurückzuweisen, die ich am Eingange meiner Arbeit anführte und die dazu den Vorzug besitzen, dass sie an streng nach Ehrlich'scher Vorschrift gewonnenen Präparaten normaler Thiere gemacht wurden. — Auch die Angabe Hirschfeld's[43] vom constanten Vorkommen differenter Granula in den Leukocyten des Meerschweinchens durchbricht das Ehrlich'sche Princip.

Hatten Ehrlich und Pappenheim mit den Arnold'schen Berichten über diese Differenz der Granula sich damit abgefunden, die basophilen Granula in eosinophilen Zellen als unreife Formen anzusehen, höchstens die Möglichkeit von Degenerations-Erscheinungen zuzugeben, so hat Arnold für seine und die Befunde Anderer in diesem Punkte andere Deutungen geltend gemacht, Deutungen, die sich Einem meiner Ansicht nach bei Erwägung der offenbar verschiedenen Rolle, die die Leukocyten bei den verschiedensten Processen zu spielen haben, geradezu von selbst aufdrängen.

Abgesehen davon, dass die Frage und der Begriff der Amphophilie der Granula im Ehrlich'schen Sinne (amphophil,

wenn ein und dasselbe Granulum Affinität für Farbstoffe verschiedener chemischer Qualität zu entwickeln im Stande ist), noch als ein offener Punkt (Arnold [6]) zu betrachten sei, da thatsächlich tinctoriell differente Granula in derselben Zelle nachgewiesen worden sind, so fänden diese merkwürdigen Befunde eine einfache Deutung, wenn man die Granula als functionelle Zell-Elemente ([6] S. 433) auffasst; „sie sind wahrscheinlich als Ausdruck von Stoffwechsel-Vorgängen anzusehen und stehen mit der Aufnahme, dem Umsatz und der Abgabe gewisser Stoffe in Zusammenhang. Möglicherweise kommt aber nicht allen Granula dieselbe Function oder manchen ausser dieser noch eine andere zu; es ist denkbar, dass namentlich die mit Fäden in Verbindung befindlichen Granula, indem sie durch diese mit dem Centralkörper in Beziehung stehen, formativen Vorgängen dienlich sind und Phasen einer fortschreitenden Entwickelung darstellen."

Es gelangt Arnold [6] (S. 434) zu folgenden Schluss- und Leitsätzen, deren wichtigste hier angeführt seien:

1. Die Granula der sogenannten eosinophilen Zellen sind bezüglich ihrer Grösse, Zahl, Gruppirung, sowie betreffs des Farbentones und Farben-Intensität innerhalb gewisser Grenzen einem Wechsel unterworfen, welcher wahrscheinlich mit der Entstehung dieser Granula aus anderen zusammenhängt. Die eosinophile Körnelung kommt in grösseren und kleineren Zellen, sowie in den verschiedensten Zellformen vor.

2. Die mit Methylenblau und Thionin sich färbenden Granula sind verschieden betreffs Form und Farbe (violett und blau), sowie bez. der Beziehung zu Fäden.

3. In derselben Zelle kommen Granula von verschiedener Affinität zu Farbstoffen vor. Ob es amphophile Granula giebt, ist zur Zeit noch unentschieden.

4. Möglicherweise kommt den Granula eine verschiedene functionelle Bedeutung in dem Sinne zu, dass die einen der Ausdruck nutritiver, bez. secretorischer Vorgänge sind, während die andern Phasen einer fortschreitender Entwicklung, einer formativen Thätigkeit anzeigen.

5. Eine Eintheilung der Knochenmarks-Zellen auf Grund des Verhaltens der Granula ist zur Zeit unmöglich, weil dieselben

Granula in verschiedenen Zellformen und verschiedene Granula in derselben Zelle vorkommen.

Hinsichtlich der Erklärung des Farbenwechsels der Granula innerhalb eines Zellleibes macht Arnold[9] (S. 844 ff.) auf folgende Möglichkeiten aufmerksam:

1. Der Farben-Wechsel ist der Ausdruck einer den verschiedenen Entwickelungs-Phasen der Granula entsprechenden Aenderung der physikalischen und chemischen Eigenschaften, bezw. beider. (ursprüngliche Ehrlich'sche Anschauung der „Reifung").

2. Die Granula ändern bei regressiven Metamorphosen ihre Eigenschaften, indem z. B. früher acidophile im Verlaufe der Degeneration basophile Eigenschaften annehmen.

3. Es treten in den Zellen in Folge von Stoffwechsel-Vorgängen Granula auf, welche während des Vollzugs der ersteren ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften ändern, z. B. aus basophilen zu acidophilen werden oder umgekehrt, d. h. der Farbstoffwechsel hängt mit der Aenderung des functionellen Zustandes der Zelle zusammen.

Da es nun Arnold gelungen war, für viele Granula directe Beziehungen zu anderen Structur-Elementen der Zelle nachzuweisen, so durfte er weiter folgern, „dass viele Granula nicht einfache Secretkörner, sondern umgewandelte Structur-Bestandtheile sind, wahrscheinlich hervorgegangen aus einer Metamorphose der Mikrosomen des Zell-Cytoplasmas, der Plasmosomen."

Mit diesem Satze ist ein bedeutendes Abrücken von der Ehrlich'schen Lehre, andrerseits eine Annäherung an die Altmann'sche Auffasung von der Zelle, wie sie uns in seiner Monographie[1] entgegentritt, wenigstens hinsichtlich der granulirten Leukocyten markirt.

Diese Deutung Arnold's der mannigfaltigsten Differenzen findet durch seine weiteren hierauf gerichteten Untersuchungen keinen Einwand, im Gegentheil Bestätigung und zahlreiche neue Stützen.

Nachdem Arnold[6, 7] an Präparaten, die mit basischen Farbstoffen oder nach der Altmann'schen Methode gefärbt waren, eine Beziehung der Granula zu Fäden aufgefunden hatte,

erhielt er späterhin mittels andrer Methoden [6], [8], [10], [11], [12] hinsichtlich dieses Punktes höchst wichtige Aufschlüsse, indem er hier offenbar ein allgemeines Princip im Aufbau des Protoplasmas, selbst der differenzirtesten Zellen der vegetativen und animalen Gewebe aufdecken konnte.

Es kommt in Jod-Jodkali-Lösungen ([7] S. 577, [8] S. 135) zur Quellung und späterhin zur „Isolirung“ bestimmter Structur-Elemente der Zellen, welche Arnold dann mannigfachen Färbungen unterwarf. „Es tritt an den Leukocyten und Knochenmarks-Zellen allmählich eine Befreiung ganzer Systeme von Fäden ein, welche eine sehr verschiedene Lage, Dicke, Lichtbrechung und event. Farben-Intensität besitzen. Auch die in ihnen eingebetteten Körner besitzen eine wechselnde Grösse und Lichtbrechung, so dass man allerdings den Eindruck erhält, als ob man es mit verschiedenen Arten von Fäden und Granula zu thun hat. Sehr häufig erscheinen die Fäden als aneinander gereihte Körner. Derartige Verbindungen können in mehreren Richtungen statthaben, ja es scheinen Kreuzungen von solchen Systemen vorzukommen. Man erhält weniger den Eindruck von Fäden, welche Granula führen, sondern von an einander gereihten Form-Elementen, die ich vorläufig als Plasmosomen bezeichnen will; selbstverständlich soll damit nicht gesagt sein, dass alle Fäden in dieser Weise entstehen und solche nicht vorkommen. Diese rundlichen, sphärischen oder mehr stäbchenförmigen Plasmosomen schliessen gewöhnlich Körner von wechselnder Grösse, Lichtbrechung und Farben-Intensität, also von verschiedener Qualität, ein. Das central gelegene Korn, für welches Arnold die Bezeichnung „Innenkörperchen“ oder (Endo-)Somation vorschlägt, hebt sich von der übrigen Substanz der Plasmosomen durch andere Lichtbrechung, entweder deutlich oder kaum erkennbar ab. Die Grösse dieser Körner ist eine sehr wechselnde, nicht nur an verschiedenen Zellen, sondern auch an verschiedenen Stellen der gleichen Zelle und bei unter einander verbundenen Plasmosomen. Grosse und kleine, stark und schwach lichtbrechende Körner wechseln mit einander ab. Nicht selten nehmen die in den Plasmosomen enthaltenen Innenkörper eine so beträchtliche Grösse an, dass die umgebende Substanz nicht mehr erkennbar ist und die Innenkörper kettenartig an einander

gereiht sind. Von den Plasmosomen abgehende verbindende Fäden erzeugen somit Bilder, dass an verschiedenen Stellen der Zelle bald eine fädige, bald eine maschige oder spongiöse Architektur zum Ausdruck gelangt. Damit wird jedoch das Vorkommen isolirter Granula nicht geleugnet."

Arnold[8] (S. 139) fasst diese Befunde folgendermassen zusammen: „Als Formelemente der Zellsubstanz der Leukocyten und Knochenmarkszellen haben wir Plasmosomen kennen gelernt, welche durch fädige oder stäbchenförmige Fortsätze untereinander zu Systemen von bald fädiger, bald netzförmiger oder spongiöser Architektur vereinigt sind. Die Plasmosomen umschliessen Körner — Innenkörperchen (Somatien) —, welche je nach der Anordnung der umhüllenden Substanz und ihrer wechselnden Grösse in grösseren Abständen von einander aufgestellt oder dicht aneinander gereiht sind. Die Lücken zwischen den Plasmosomen-Systemen sind mit einer hyalinen Substanz ausgefüllt; man könnte sie im Gegensatz zu den Plasmosomen-Systemen — dem Protoplasma — als Paraplasma bezeichnen. Je nach der gegenwärtigen Anordnung der Plasmosomen und der zwischen ihnen gelegenen Substanz ist die Architektur eine wechselnde."

Diesen Thatsachen zufolge müssen demnach ([7] S. 79) viele Granula, unter ihnen namentlich die eosinophilen, nicht als von aussen aufgenommene Zelleinschlüsse, sondern als der Zelle zugehörige, vielleicht durch Umwandlung der Substanz derselben entstandene Gebilde betrachtet werden, ebenso ist es aber auch für viele Granula nicht mehr angängig, sie als einfache Secretkörner aufzufassen."

Als einen weiteren, sehr wichtigen Beweis gegen diese letztere Anschauung glaube ich an dieser Stelle die Beziehungen anführen zu müssen, welche die Granula zu kinetischen Vorgängen in den Leukocyten erkennen lassen. Einmal dürften hierher die Strömungsvorgänge der eosinophilen Granula gehören, die nach Kanthack und Hardy[46] in Leukocyten zu beobachten waren, welche sich im Beginn der Phagocytose von pathogenen Bacillen befanden. Vor Allem aber ist in dieser Hinsicht die, insbesondere genauer von Marwedel[55] (S. 40), und später auch von Bettmann[19] beobachtete Thatsache, „dass in der

Mehrzahl der eosinophilen (= pseudoeosinophilen) Zellen die Granula bei der Mitose eine ganz gesetzmässige Lagerung einnehmen, die auf das Genaueste mit der bekannten Anordnung des achromatischen Fadensystemes in anderen Zellen übereinstimmt."

Ferner ist nun Arnold[10] der Granula-Frage mittels der Methode der sogen. „vitalen Färbung" nahe getreten. Dass er die vielleicht strengere Methode Fischel's[31], die Untersuchungsthiere in toto und in vivo in dünnen Farblösungen der Tinction zu unterwerfen, nicht anwandte, ergiebt sich aus dem hierzu ungeeigneten Object von selbst. Fischel stellte seine Untersuchungen an den Zellen des Hautepithels und der Cornea verschiedener Amphibien-Larven an; der Schluss Fischel's, den er aus der verschiedenen vitalen Färbbarkeit, insbesondere an Pigment-Epithelzellen seiner Frosch-Larven, von Granulis innerhalb derselben Zelle zieht, dass es sich einmal um chemisch verschiedene Substanzen handelt, wird unter ähnlicher Voraussetzung auch für andere Objecte gelten dürfen; die andere Beobachtung (S. 457), „dass zwischen dem Gehalt einer Zelle an Pigmentkörnern und an färbbaren Granulis eine Wechselbeziehung in dem Sinne besteht, dass der Reichthum an Zell-Einschlüssen der einen mit Armuth an solchen der anderen Art vorhanden sei", dürfte von mehr als speciellem Interesse sein. Nach ausführlichen, principiellen, allgemeinen Auseinandersetzungen (S. 490—500) und nicht zum mindesten aus dem Grunde, dass seinen Granulis eine ausgeprägte Elektivität den Farbstoffen gegenüber zukommt, sieht Fischel hier eine Färbung eines lebendigen Bestandtheiles des Zellkörpers (S. 496); was aber in dem einen Falle gelte, „gelte wohl auch für andere Zellformen und daraus folgt, dass jene erwähnten, typisch verschiedenen Granulirungs-Arten auch typisch verschiedenen Plasma-Arten entsprechen dürften."

Da Arnold aber nun auch, abgesehen von seinen Versuchen an der lebenden Zunge und dem lebenden Mesenterium des Frosches, nachweisen konnte, dass die Leukocyten auch bei seiner Methode nach erfolgter Färbung noch active Lebensäusserungen verschiedenster Art zeigten, so ist damit das Princip und die Forderung der „vitalen Färbung" vollauf erfüllt. — Diese Untersuchungen Arnold's führen uns hinüber zu jenen

Versuchen, die den Nachweis erbrachten, dass die einzelnen Granula einer Zelle auch functionell eine verschiedene Reaction zu erkennen geben. Es wurden die bekannten Hollundermark-Plättchen in bestimmte Gewebe von Frosch und Kaninchen eingeführt und vor der Einführung oder nach der Herausnahme mit dem Farbstoff, am besten Neutralroth oder Methylenblau, in Substanz oder Lösung, beschickt. Es ergab sich, dass die Zahl, Form, Grösse und Farben-Intensität der als praeexistent nachweisbaren Leukocyten-Granula eine sehr wechselnde ist; bei längerer Versuchsdauer beginnen auch die Zwischenglieder sich zu färben, es entstehen gefärbte Fäden, vereinzelt oder verzweigt oder in netzförmiger Anordnung. Zwischen intensiv gefärbten Granula finden sich meistens schwächer und gar nicht gefärbte, meistens kleinere Körner. Bei Färbung von Wanderzellen mit einem Gemenge von Neutralroth und Methylenblau in Substanz kommen in den einen Zellen rothe, in anderen blaue, in wiederum anderen rothe und blaue Granula zum Vorschein. Es ergiebt sich [10] (S. 436) also auch bei dieser Versuchs-Methode, dass die Anordnung der Körner, ihre gegenseitige Beziehung und Aneinanderreihung, ihr Verhalten zu den Zwischengliedern und ihre Lagerung in Fäden, sowie dass der Befund von Uebergangsformen gefärbter in nicht gefärbte, von grösseren zu kleineren Körnern es wahrscheinlich macht, dass es sich wenigstens bei vielen derselben um Structur-Bestandtheile der Zellen handelt. Die Existenz der nicht gefärbten Körner aber beweist, dass die gefärbten Granula nur einen Theil der körnigen Structur-Elemente — der Plasmosomen — darstellen und zwar wahrscheinlich solche, welche bereits eine Umwandlung erfahren haben." Plato [65a] (S. 914) dagegen, der insbesondere das Verhalten von Mikroorganismen in Leukocyten der vitalen Färbung gegenüber studirte, kommt zu dem dem Arnold'schen Schlusse durchaus entgegengesetzten Resultat, dass „in lebenden Leukocyten sich mit Neutralroth mit Vorliebe solche Substanzen eiweisshaltiger Natur färben, die durch Phagocytose aufgenommen sind", sowie dass „die „vitale" Färbbarkeit von Vacuolen, sowie von Stoffwechsel- und Secretions-Producten in den Leukocyten, ferner von integrirenden, an den Lebensfunctionen der Zelle activ theilnehmenden Structur-Elementen unbewiesen ist". —

Folgen wir nun aber weiterhin den Arnold'schen Arbeiten, so finden die Thatsachen des verschiedenen Verhaltens der Granula denselben Einwirkungen gegenüber durch die letzte Versuchsreihe Arnold's hinsichtlich der Auffassung der Granula als „functionelle" Structur-Elemente des Cytoplasmas eine weitere wesentliche Bestätigung. Bei dem Widerstreit der Meinungen über das Wesen des Färbe-Processes und in Folge dessen über die wissenschaftliche Bewerthung und Beweiskraft des Färbe-Effectes ist es wichtig, dass wir zwei Stoffe besitzen, die sich mikrochemisch nach den allgemeinen Anschauungen mit Sicherheit in den Zellen nachweisen lassen, Eisen und Fett, beide allerdings unter gewissen Einschränkungen hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung. Die Sicherheit der Reaction auf Fett ist, so lange man nur die Reduction der Ueberosmiumsäure kannte, zwar noch immer auf Zweifel gestossen, sie scheint aber durch die Anwendung von Sudan III erheblich an Werth gewonnen zu haben. Sudan III soll thatsächlich nur Fett färben, und zwar soll es sich, wie ich einer Notiz von Pappenheim[65] und Michaelis[55a] entnehme, hier um einen Lösungsvorgang des Sudan III im Fette handeln, und zwar hat nach Michaelis der fettfärbende Charakter des Farbstoffes in seiner Constitution den Mangel jeglicher salzbildenden (OH-)Gruppe zur Voraussetzung.

Es setzte Arnold[13—16] also die Leukocyten und andere Gewebe des Körpers der Einwirkung von Eisen oder Fett in verschiedener chemischer Constitution aus. In dem mikrochemisch nachweisbaren Zustande haben beide Substanzen in der Art und Weise ihres späteren Auftretens in den Leukocyten keine Differenzen, hingegen völlige Uebereinstimmung unter einander, wie mit den Bildern gezeigt, wie sie Arnold aus seinen früheren Untersuchungen bekannt waren.

Es war in den „sideroferen" und „Fettkörnchen-Zellen" Eisen und Fett in derselben körnigen Form, Lagerung, Anordnung, Mannigfaltigkeit der Grössen-Unterschiede der Körner und Beziehung derselben zu Fäden nachweisbar, wie sie das Structurbild der granulirten Leukocyten am Jodjodkali-Präparat oder an den Methylenblau- und Neutralroth-Bildern ergeben hatte, sodass man bei diesen Stoffwechsel-Vorgängen auf eine Umwandlung der Plasmosomen in sidero- und lipofere Granula zu schliessen gezwungen wird.

Die Aneinanderreihung der Haemosiderin- oder Fett-Granula, ihre Verbindung durch Zwischenglieder, die event. ebenfalls typisch reagiren konnten, die Unterbrechung der Ketten von Eisen- und Fett-Granula durch ungefärbte Plasmosomen liessen sich nicht anders deuten. In anderen Fällen erhielt man bei Nachfärbung mit Eosin Zellen, die neben rothen, eosinophilen oder pseudoeosinophilen Granula, blaue oder schwarze (Osmiumsäure-Reaction) von derselben Form und Anordnung enthielten. Dies sind die Gründe, die in Bezug auf diese Substanzen sowohl gegen eine einfache Phagocytose, wie gegen eine Auffassung der Körner als Fällungs-Granula wie endlich als einfache „Secret-Körner" sprechen, sondern diese wechselvollen Bilder, beziehungsweise die Reaction der Granula innerhalb einer Zelle sprechen dafür, dass es sich hier um Functions-Aeusserungen der Granula handelt, dass auch sie als Umwandelungs-Producte der Zell-Plasmosomen anzusehen sind. Diese Thatsachen sind ein weiterer Beleg für die functionelle Bedeutung der Plasmosomen und den von ihrer Function abhängigen Wechsel im Aufbau der Zellen.

Da nun aber für manche intracelluläre Eisenkörner die Auffassung als rein phagocytisch aufgenommener Substanzen nicht von der Hand zu weisen ist, so kommen nach Arnold[13] (S. 303) folgende Möglichkeiten des intracellulären Auftretensdes Eisens in Betracht:

1. Das Eisen kann in Form von Körnern nach dem Typus der Phagocytose in den Zellen auftreten;
   a) hierbei können die Eisenkörner als solche erhalten bleiben,
   b) oder innerhalb der Zellen zur Lösung gelangen und wieder ausgefüllt werden.

2. Das Eisen wird in gelöster Form aufgenommen und innerhalb der Zellen ausgefällt,

3. Es wird von den Plasmosomen der Zellen gebunden und in eisenführende Granula umgesetzt (Synthese).

Es liegt nahe, dieselben Möglichkeiten für die Fettaufnahme sowie für die Fälle in Betracht zu ziehen, in denen Fett- und Haemosiderin-Körnchen gleichzeitig in einem Zellleib beobachtet werden.

Von welcher Wichtigkeit diese experimentellen Befunde sind, ergiebt sich schon daraus, dass bei endogener Siderosis (z. B. brauner Lungeninduration) die „sideroferen", wie bei endogener Lipogenese die „Fettkörnchen-Zellen", wie sie in den Erweichungsheerden des Gehirns nachzuweisen waren, das Structurbild von dem bei experimentell erzeugter exogener Siderose und Lipogenese der Leukocyten Abweichungen nicht erkennen liess.

„So sehr man nach diesen Thatsachen von gleichzeitigem Vorkommen verschieden reagirender Granula innerhalb einer Zelle über die ausserordentliche Anpassungsfähigkeit der Leukocyten-Plasmosomen den verschiedenen Stoffwechsel-Vorgängen gegenüber übereinstimmen wird, so vorsichtig wird man mit einer Deutung der Entstehung, der nöthigen Vor- oder Zwischenstadien der verschieden reagirenden Granula zurückhalten müssen; das sei ausdrücklich betont." Ueber die Einzelheiten der Stoffwechsel-Vorgänge sich nur mit grösster Vorsicht auszusprechen, werden Beobachtungen, wie einmal das Vorkommen feinster Eisen-Granula im Plasmosomennetz von eosinophilen und pseudoeosinophilen Zellen, andererseits der Nachweis von rauchgrauen oder schmutzigrothen Körnern bei gleichzeitiger Eosin-Färbung an osmirten Präparaten, wie sie Arnold beschreibt, und endlich das Auftreten von Fettgranulis in eosinophilen Zellen, wie ich sie in jenem Lymphosarcom nachweisen konnte, ohne dass dieselben Granula ihre acidophilen Eigenschaften eingebüsst hatten, meines Erachtens genügend ermahnen.

Aus den Marwedel'schen Mittheilungen [55] (S. 53ff.) über die Erklärung von Eisenpigment-Granula im Gallertmark, der ebenfalls aus dem gleichzeitigen Vorkommen von Hämosiderin- und eosinophilen Körnern in einer Zelle, aus der ganzen Anordnung der Pigment-Körner, der Congruenz der verschiedenen Granula in Bezug auf Form und Grösse eine einfache phagocytäre oder durch Fällung bedingte Entstehung der Eisen-Granula ablehnt, geht beispielsweise hervor, auf welche Schwierigkeiten eine solche Erörterung überhaupt stösst.

Erst recht im Unklaren sind wir aber über die weiteren Schicksale jener, gewissen Functionszuständen der Plasmosomen entsprechenden Granula; dass viele derselben im Ehrlich'schen Sinne dazu bestimmt sind, an die Umgebung abgegeben zu

werden, wird für viele Fälle wohl zutreffend sein; es bringt in neuester Zeit hierfür Nösske[60] ein interessantes Beispiel. Andere Hypothesen dürften aber trotz jener Thatsachen nicht von der Hand zu weisen sein; vielleicht ist unter Anderem jener Eingangs erwähnte, wenn nicht als postmortale Erscheinung zu deutende Befund in einem alten narbigen Heerd des Kleinhirns von sich schlecht mit Sudan III färbenden Krystallen in granulirten Zellen, in denen einige Granula typisch basophil reagirten, geeignet, einen Fingerzeig zu geben. Andere Hypothesen sind mannigfach aufgestellt worden, ich erinnere an Umwandlung der eosinophilen Substanz in Charcot-Leyden'sche Krystalle, in Hämoglobin, um dann aber auch alle Widerspruch erfahren zu haben.

Nunmehr am Schlusse der Arbeit angelangt, möchte ich nochmals kurz die Stellung der verschiedenen Bearbeiter der Frage der Leukocyten-Granula skizziren; für diesen Zweck war es wichtig, die Ausführungen der Autoren im Vorhergehenden ausführlicher wiederzugeben; schliesslich möchte ich mir erlauben, an der Hand des oben angeführten Materials die Ansicht zu fixiren, die ich mir über dieses Problem gebildet habe.

Die ursprünglich so klar in die Augen springenden Erfolge Ehrlich's bezüglich seiner Leukocyten-Granulationen hatten ihn dazu geführt, zum Studium und zur Kenntniss und differenziellen Diagnose der Leukocyten und ihrer Granula im Wesentlichen eine ganz bestimmte Methode der Fixirung und Färbung seiner Präparate zu verlangen; die Betonung der Combinations-Färbung bedeutet hierbei sicherlich einen Fortschritt in der histologischen Technik überhaupt. Seine Methode hat eine prächtige Hervorhebung der Leukocyten-Granula erzielt; sie verhalten sich den verschiedenen Farbstoff-Qualitäten, den basischen sauren Tinctions-Mitteln oder „neutralen Mischungen" gegenüber durchaus verschieden, aber derart, dass in einem Leukocyten-Leib die Granula nur eine einzige Farbstoffaffinität zu entwickeln vermögen. Auf dieser auffälligen und charakteristischen „Specifität" wird eine Classification der granulirten Leukocyten aufgebaut; Pappenheim, streng auf Ehrlich'schen Boden stehend, hat jeden Leukocyten nach seinem tinctoriellen Verhalten auf einen unverrückbaren Platz im System gestellt, eine Differenzirung,

die im embryonalen Leben allerdings noch nicht erreicht ist. Ehrlich fasst die Granula als ein Erzeugniss des Leukocyten-Stoffwechsels auf, als ein Secretions-Product; da dieses ja nur einsinnig in einer Zelle vorkommt, ist es ein „specifisches", wobei allerdings die Fähigkeit der „specifischen" Zellthätigkeit eine gewisse Entwicklungsreife des Thieres und der Zelle voraussetzt. Das gelegentliche, bei manchen Thieren aber regelmässige Vorkommen verschieden gefärbter Granula innerhalb eines Protoplasma-Leibes erklärt die Theorie als auf verschiedenen „Reifungszuständen" der Körner beruhend und sieht die Basophilie als den jüngeren Zustand an. Man wird zugeben, dass die Einführung jenes Begriffes der „Reifung" geeignet ist, Unklarheit in die ganze Lehre zu bringen; auch dann, wenn nach Pappenheim diese Erscheinung auf einen noch undifferenzirten Zellzustand zurückgeführt wird. Nach Ehrlich selbst ist es nicht ganz klar, ob jedes Granulum in der Jugend des Leukocyten einen solchen „jungen" Zustand hat durchmachen müssen, oder ob alte, „reife" Zellen neben eigentlichen „specifischen" auch „junge", „unreife" Granula produciren können. Beide Möglichkeiten bergen bereits einen Angriffspunkt gegen eine strenge Auffassung der Ehrlich'schen Lehre von der Specifität der Leukocyten-Granula in sich.

Die Möglichkeit, dass bei pathologischen Veränderungen des Organismus auch die Production der Granula andere, atypische Charaktere annehmen kann, wird indess gewiss Jeder gern zugeben und ihr hat sich auch Ehrlich nicht verschlossen.

Das Wesentliche, was die Ehrlich'sche Schule aus ihren farbenanalytischen Untersuchungen hervorgebracht hat, ist eine Classification der Leukocyten. So werthvoll im Allgemeinen eine solche und so überzeugend sie auf den ersten Blick bei Anwendung der Methode erscheint, so hat uns diese Classification bisher allgemeinere, wirklich tiefer in das Wesen und den Charakter bestimmter pathologischer oder normaler Processe eindringende Kenntnisse nur in geringem Grade verschafft; insonderheit hat man die eosinophilen Zellen vielfach daraufhin untersucht. Die Meinungen über den Blutbefund oder gar das Wesen der Leukämie sind noch durchaus getheilt. Auch die Beobachtungen über das Vorkommen und die Stellung der

eosinophilen Zellen bei anderen Krankheits-Processen sind noch ohne principielle klare Deutung geblieben. Nach neueren Arbeiten (Feldbausch[30], Nösske[60]) scheinen sie in den Frühstadien bestimmter Krankheits-Processe eine Rolle zu spielen, nach Bettmann[21] aber ist die praktische Verwerthbarkeit der eosinophilen Zellen zur Zeit eine ausserordentlich beschränkte.

Es ist gegen die Ehrlich'sche Theorie ein weiterer Einwand zu machen, der sich auf den angreifbaren Werth seiner Methode bezieht. Eine wissenschaftliche Systematik verlangt, ganz im Allgemeinen gesprochen, eine den natürlichen Verhältnissen entsprechende Eintheilung; solange hierzu nicht die Anwendung einer besonderen unterstützenden Methode nothwendig ist, wird sich eine Classification verhältnissmässig einfach erzielen lassen. Im anderen Fall aber darf verlangt werden, dass das auf Umwegen aufgestellte System auch anderen berechtigten Methoden gegenüber sich bewährt; andererseits aber muss vorausgesetzt werden, dass die angewandte Methode eine eindeutige wissenschaftliche Erklärung gefunden hat, dass irgend ein Zweifel über die Vorgänge, welche die Methode in sich birgt, nicht obwalten kann. Diese Erwägung, auf die Frage der granulirten Leukocyten angewandt, will also sagen, dass eine Classification der Leukocyten nach ihrem farbchemischen Verhalten nur dann berechtigt ist, oder nur dann einer wirklich natürlichen Eintheilung entsprechen kann, wenn über den Vorgang der Färbung als einer chemischen Function ein Zweifel überhaupt nicht besteht.

Ein aufmerksames Studium zahlreicher Arbeiten, die sich mit der Theorie der Färbung beschäftigen, und von denen ich hier nur einige Vertreter der verschiedenen Richtungen anführen will, wie Knecht[47, 48], Vignon[85, 86], Unna[84], P. Mayer[55a], Pappenheim[65], Fischel[31], andererseits Georgievics[33, 34], Hwass[44a], von Perger[70], Gierke[35], vor Allem Fischer[32], sodann O. N. Witt[90], und endlich C. O. Weber[87], Gnehm und Rötheli[36], sowie Hofmeister[44] und Spiro[82] beweist, wie lebhaft die Frage, ob die Färbung ein physikalischer oder ein chemischer Vorgang ist, offenbar besonders beeinflusst seit den die Grenzgebiete von Physik und Chemie streifenden Lehren

von Ostwald, van't Hoff, Nernst und Arrhenius, noch im Mittelpunkt weit auseinander gehender Discussionen steht, und vor Allem, wie difficil ihre Beantwortung nicht nur im Allgemeinen, sondern auch für den einzelnen Fall zu sein scheint. Solange aber diese Beantwortung aussteht, müssen wir uns eben mit einer aus rein morphologischen Betrachtungen sich ergebenden Eintheilung begnügen und uns stets daran erinnern, dass zwar die Färbung gewisse Elemente besonders deutlich oder scheinbar charakteristisch hervorheben, und dass die Eintheilung der Leukocyten nach ihrem Verhalten Farbstoffen gegenüber rein äusserlichen Zwecken entsprechen mag, indess den Kern der Sache noch lange nicht zu treffen braucht und ihn thatsächlich auch nicht trifft. Liessen sich auch sonst gegen Ehrlich's Ansicht von der rein chemischen Natur seiner farbenanalytischen Methode Gegengründe nicht vorbringen, so giebt es doch Momente, die veranlassen, den Effect der sogen. „mikrochemischen Reactionen", welche in die feinere chemische Analyse und Differenzirung der Gewebs-Structuren eindringen wollen und auf Farb-Reactionen basiren, nur mit sehr grosser Vorsicht aufzunehmen und gleichgefärbtes noch lange nicht als Substanzen von gleicher Qualität aufzufassen. Ein typisches Beispiel hierfür bietet die von Lilienfeld und Monti[51] angegebene Methode des Phosphor-Nachweises in Geweben mittels Molybdänsäure, von der nur wenige Jahre später Heine[40, 41] in einer demselben Laboratorium entstammenden Arbeit nachweisen konnte, dass die typische Reaction auch mit anderen Körpern eintrat.

Von jeher hat die Ehrlich'sche Lehre mit der Altmann-schen Granula-Theorie in scharfem und bewusstem Kampfe gestanden. „Granulum gleich Bioblast" sagt Alles. Altmann[1] sieht im primären Granulum die vitale Substanz der Zelle, in welchem sich, wenn es vegetativen Zwecken dient, Resorption, Assimilation und Secretion abspielen; die eigentliche vitale Materie des Granulums ist uns unbekannt, histologisch-mikroskopisch erkennen wir nur seine Lebens-Aeusserungen. Obwohl im Wesentlichen auf einem anderen Materiale aufgebaut, hätte diese Theorie Altmann's auch für die Frage der Leukocyten-Granula viel Verlockendes haben müssen; meines Wissens indess hat nur Weiss[89] ihre Verwerthbarkeit für das Verständniss der granulirten Leukocyten ausdrücklich betont.

Die neueren Bearbeiter dieses Gebietes, abgesehen von absoluten Anhängern der Ehrlich'schen Schule, bringen der Altmann'schen Auffassung neue Beiträge; gewiss nicht in dem Sinne, dass im Einzelnen die Vorstellung Altmann's von der Entstehung und dem Auftreten der (Leukocyten-)Granula nunmehr eine vollständig gesicherte wäre; aber die Auffassung von einer gewissen physiologischen Selbstständigkeit, Anpassungsfähigkeit und Activität des Granulums in der Gesammtorganisation der Zelle hat zweifellos neuerdings erhebliche Stützen gefunden; so geht für die Körnungen in seinen epithelialen Elementen für Fischel [31] (S. 499) hervor, „dass jene färbbaren Granula Elemente darstellen, welche constant und in unveränderlicher Form den Zellen zukommen, also förmlich zu ihrem „eisernen Bestande" gehören. Solche Elemente sind aber eher lebende Protoplasma-Theile als todte, passive Producte der „Energide", und (S. 510) er sieht „in den Granulis zwar Gebilde von vitaler Bedeutung, aber keine Elementar-Organismen, sondern Elementar-Organe der Zelle. Auch sind nicht alle Granula gleichwerthige Elemente; wenn einzelne active Gebilde repräsentiren, stellen andere nicht selbstthätige Organe, sondern passive Einschlüsse der Bionten dar."

Nachdem Arnold nachgewiesen hat, dass es sich bei dem Auftreten von Eisen- und Fettgranulis in Leukocyten durchaus nicht um einfache Processe der Phagocytose handelt, sondern dass diese Erscheinungen nothwendig lebhafte Umsetzungen und Assimilationsvorgänge in den Granulis (Plasmosomen) zur Voraussetzung haben müssen, hat die ganze Frage zweifellos ein ganz anderes Aussehen gewonnen. Das Auftreten von Fett- oder Eisenkörnchen gleichzeitig mit eosinophilen Körnern in ein und derselben Zelle in morphologisch unterschiedslosen Structurverhältnissen, sowie meine Befunde an genau nach Ehrlich's Vorschrift gewonnen Präparaten vom Knochenmark des Kaninchens machen es durchaus unmöglich, weiterhin ausschliesslich die Lehre von Specifität und Secretion der Leukocytengranula aufrecht zu erhalten. Man wird zugeben, dass diese „mikrochemischen Reactionen", die uns die Variabilität der Granula so schön ad oculos demonstriren, etwas roh sein mögen im Vergleich zu denen, welche etwa Eiweisskörper nahe verwandter chemischer Zu-

sammensetzung verlangen; dies ist eine Lücke; so lange jedoch die Hypothese über das Wesen der Färbung nicht gelöst ist, solange braucht Gleichgefärbtes noch lange nicht von gleicher chemischer Zusammensetzung zu sein, zumal, nachdem die Objecte den verschiedenen rohen Fixationsmethoden unterworfen waren.

Das durchaus nicht seltene Vorkommen von Granulis total verschiedener Farbstoffaffinität in einem Zellleib, wie das Auftreten von allen möglichen Uebergängen scheinen darauf hinzuweisen, dass die Granula, auch einer Zelle, von sehr verschiedener Substanz sein können, wie andererseits, dass diese Substanzen als Granula noch Umwandlungen erleiden. Inwiefern man hierbei von Jugend oder Alter der Granula überhaupt sprechen darf, muss vollständig dahingestellt bleiben. Abgesehen von jenen Schwankungen der Farbenintensität weisen auf die Umwandlungsfähigkeit auch jene von mir eingangs erwähnten Befunde von auf Fett- und acidophile Substanz reagirenden Körnchen in jenen eosinophilen Zellen eines Lymphosarcoms hin, wie andererseits ein derartiges Vorkommniss, dass jene Fettgranula bei singulärer oder succedaner Färbung mit sauren Farbstoffen auch diese aufnahmen, zeigt, wie leicht man sich über die Anwesenheit der einen oder anderen Substanz täuschen kann; bei ausschliesslicher Anwendung von Hitzefixation oder Fixation nach Nikiforoff wird ein derartiger Befund ja überhaupt nicht zu erheben sein. Hinsichtlich des Farbenwechsels der Granula innerhalb eines Zellleibes sei auf die drei von Arnold[9] (S. 844) mitgetheilten Möglichkeiten zurückverwiesen.

Mit der Aufgabe der ausschliesslichen Lehre von Secretion und Specifität bricht aber auch die Classification der granulirten Leukocyten zusammen, und wir gelangen zu einer mehr einheitlichen Auffassung der Leukocyten. M. Heidenhain[38] hat, wie ich einer Arbeit H. E. Müllers entnehme, bereits ausgesprochen, dass der eosinophile Zustand nur einer besonderen Reizungsform des lebendigen Zellleibes entspreche; es stelle der Typus der eosinophilen Zellen nicht etwa eine besondere morphologische Art vor, sondern diese Zellen seien ihrer Art nach identisch mit den ordinären weissen Blutkörperchen, deren verschiedene Formen ebenfalls sammt und sonders in einander übergehen.

Diesem Standpunkt nahe befindet sich vor Allem auch Grünwald.[37]

Unsere Anschauungen über die Natur und das Wesen der Leukocyten und ihrer Granula stehen somit auf einer breiten Basis, und in der That kommt diese mehr einheitliche Auffassung der Leukocyten, ausgestattet mit labilen functionellen Fähigkeiten, unsern sonstigen Vorstellungen über die Bedeutung der Leukocyten entgegen, und ihr Auftreten bei den allerverschiedensten reactiven Processen wird uns erst so recht verständlich, mag man ihnen nun mehr resorptive oder productive Eigenschaften, etwa im Sinne von Alexinwirkung zuschreiben. Das Auftreten verschiedener Reactionen der Granula wird aber dann bei dieser Auffassung Wunderbares nicht mehr haben, ohne dass man deshalb die Granula selbst für bestimmte, hypothetisch sich an die Gegenwart der Leukocyten knüpfende Wirkungen verantwortlich zu machen brauchte. Für die Assimilation bestimmter exo- und endogener Substanzen ist ja nunmehr bereits der Beweis erbracht. —

Die Ehrlich'schen Methoden liefern bei exacter Ausführung praktisch verwerthbare Resultate; wie weit diese praktische Verwerthbarkeit geht, das zu untersuchen, liegt nicht im Rahmen dieser Arbeit. Dagegen zeigt sich, dass bei Abänderung der Methodik abweichende Resultate eintreten; im 1. Teil meiner Arbeit glaube ich dafür neues Material beigebracht zu haben. Da nun die Voraussetzungen der Ehrlich'schen Methode künstliche sind, wie die irgend einer anderen beliebigen Färbemethode, so können die Ergebnisse Ehrlich's von vorn herein nicht den Anspruch darauf erheben, dass sie uns tiefere Einblicke in das Wesen der Granula gestatten. Den Vorstellungen von dem Wesen der Granula, zu denen Ehrlich gelangt, widersprechen eine ganze Reihe neuerer Untersuchungen, auf die ich eingehend hinwies; auf Grund aber dieser Untersuchungen gelange ich zu folgenden Anschauungen:

1. Soweit sich die Lehre Ehrlich's von der „Specifität" der Leukocytengranula und die auf ihr sich gründende Classification der granulirten Leukocyten auf die Farbenanalyse beruft, ist sie nicht beweiskräftig.

2. Gegen eine „Specifität" der Granula innerhalb eines

Zellleibes sprechen die zahlreichen Befunde von verschieden reagirenden, in ihrer morphologischen Stellung aber gleichartigen Granula innerhalb eines Zellleibes, während andrerseits das Vorkommen zahlreicher Uebergänge, was Grösse und Farbennuance betrifft, einen Uebergang der einen Leukocytenart (im Sinne der Ehrlich'schen Eintheilung) zu anderen Arten wahrscheinlich macht.

3. Die Abhängigkeit der mikrochemischen Reaction vieler Granula von bestimmten experimentellen, bezw. von bestimmten pathologischen Vorgängen, denen die Leukocyten ausgesetzt waren, sowie das Verhalten der Granula bei Zelltheilungsvorgängen sprechen dafür, dass es sich nach Arnold hier um Functionsäusserungen handelt, Momente, die sowohl gegen die Annahme einer einfachen Phagocytose, wie gegen eine Auffassung der Körner als Fällungsgranula wie als „einfache Secretgranula" sprechen.

4. Wie es somit auf Grund der Uebergänge nicht möglich erscheint, auf einem verschiedenen farbenanalytischen Verhalten der Granula eine Classification der Leukocyten aufzubauen, wird man vielmehr dazu gedrängt, an einer einheitlichen Auffassung der granulirten Leukocyten festzuhalten, hierbei aber eine ausserordentliche Labilität und Anpassungsfähigkeit und Mannigfaltigkeit der Function der Leukocyten, wie insbesondere der Granula anzunehmen.

5. Wird auch für alle Leukocytengranula der Nachweis kaum zu erbringen sein, dass sie nicht einfache Secretionsproducte seien, so ergiebt sich nach Allem für die Auffassung der Leukocytengranula die grössere Wahrscheinlichkeit dafür, dass sie Structurbestandtheile der Zellen sind, und dass den Granulis eine weitgehende Bedeutung für Resorption, Assimilation, Secretion zugesprochen wird.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, Herrn Geh. Rath Arnold, meinem hochverehrten Lehrer, für die Anregung zu jenen Untersuchungen und das Interesse, welches er dem Fortgange der Arbeit entgegenbrachte, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Altmann, R.: Die Elementarorganismen u. ihre Beziehungen zu den Zellen. Leipzig 1894. 2. Aufl.

2. Derselbe: Die vitalen Leistungen des Organismus. Arch. f. Anat. u. Physiol. Anat. Abth. 1897, S. 86—96.
3. Arnold, J.: Beobachtungen über Kerne und Kerntheilungs-Figuren an den Zellen des Knochenmarks. Dieses Archiv 1883, 93.
4. Derselbe: Weitere Beobachtungen über die Theilungsorgane an den Knochenmarkszellen u. weissen Blutkörpern. Dieses Arch. 1884, 97, S. 107—131.
5. Derselbe: Altes u. Neues über Wanderzellen, insbesondere deren Herkunft u. Umwandlungen. Dieses Arch. 1893, 132, S. 502 bis 529.
6. Derselbe: Zur Morphologie u. Biologie der Zellen des Knochenmarkes. Dieses Arch. 1895, 140, S. 411—448.
7. Derselbe: Ueber die feinere Structur der hämoglobinlosen u. hämoglobinhaltigen Knochenmarks-Zellen. Dieses Arch. 1896, 144, S. 67—85.
8. Derselbe: Ueber Structur u. Architektur der Zellen. Arch. f. mikrosk. Anat. u. Entwickelungsgesch. 1898, 52, I. S. 134—151; II. S. 535 bis 552; III. S. 762—773.
9. Derselbe: Der Farbenwechsel der Zellgranula, insbesondere der Acidophilen. Centralbl. f. allg. Pathol. u. path. Anat. 1899, X, S. 841—846.
10. Derselbe: Ueber Granulafärbung lebender u. überlebender Leukocyten. Dieses Arch. 1899, 157, S. 424—437.
11. Derselbe: Ueber Granulafärbung lebender u. überlebender Gewebe. Dieses Arch. 1900, 159, S. 101—116.
12. Derselbe: Ueber vitale Granulafärbung in den Knorpelzellen, Muskelfasern u. Ganglienzellen. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickelungsgeschichte 1900, 55, S. 479—487.
13. Derselbe: Ueber Siderosis u. siderofere Zellen, zugleich ein Beitrag zur Granulalehre. Dieses Arch. 1900, 161, S. 284—310.
14. Derselbe: Siderofere Zellen u. die Granulalehre. Anat. Anz. 1900, XVII, S. 346—354.
15. Derselbe: Ueber „Fettkörnchenzellen", ein weiterer Beitrag zur Granulalehre". Dieses Arch. 1900, 163, S. 1—20.
16. Derselbe: „Fettkörnchenzellen" u. „Granulalehre". Anat. Anz. 1900, XVIII, S. 385—391.
17. Bannwarth: Untersuchungen über die Milz. Arch. f. mikrosk. Anat. 1891, 38, insbes. S. 432—446.
18. Barker: On the present of iron in the granules of the eosinophile leukocytes. John Hopkin's Hospit. Bull. Oct. 1894, No. 42. Citirt nach Marwedel.
19. Bettmann, S.: Ueber Einfluss des Arseniks auf das Blut und das Knochenmark des Kaninchens. II. Ziegler's Beiträge, 1898, XXIII. S. 443—497.

20. Derselbe: Ueber das Verhalten der eosinoph. Zellen in Hautblasen, Münch. med. Wochenschr. 1898.
21. Derselbe: Die praktische Bedeutung der eosinoph. Zellen. Samml. klin. Vortr. (Volkmann) 1900, No. 266.
21a. Derselbe: Ueber „hypeosinophile" Granula. Ctrlbl. f. innere Medicin, 1900, XXI, S. 129—132.
22. Biesiadecki: Leukämische Tumoren der Haut u. des Darmes mit einigen Bemerkungen über den leukämischen Process selbst. Wiener med. Jahrb. 1876. Citirt nach H. F. Müller.
23. Bogdanoff: De l'origine et de la valeur des Granulations éosinophiles et de leurs rapports avec la formation du sang. Le Physiologiste Russe, 1898, Vol. I, p. 37.
23a. Borysow: Zur Analyse der Färbung der weissen Blutkörper. Arbeiten der Gesellsch. russ. Aerzte. St. Petersburg 1897, 65. Jahrg., Septemberheft, S. 31—38 (russisch). Referat von Hoyer in den Jahresb. über die Fortschritte der Anat. u. Entwickelungsgesch. 1897. Neue Folge III.
24. Coenen: Die Aleuronat-Pleuritis des Kaninchens. Dieses Arch. 1901, 163, S. 84—107.
25. Ehrlich P.: Ueber die specifischen Granulationen des Blutes. Verh. der physiol. Gesellsch. Berlin 1878/79, No. 20.
26. Derselbe: Beiträge zur Kenntniss der granulirten Zellen. Verh. der physiol. Gesellsch. Berlin 1878/79.
27. Derselbe: Methodol. Beiträge zur Physiologie und Pathologie der verschiedenen Formen der Leukocyten Zeitschr. f. klin. Medicin, I, 1880.
28. Derselbe: Ueber die Bedeutung der neutrophilen Körnelung. Charité-Annalen, 1887, XII.
29. Ehrlich u. Lazarus: Die Anämie I. Wien 1898.
30. Feldbausch: Ueber das Vorkommen von eosinoph. Leukocyten in Tumoren. Dieses Arch., 161, S. 1—18, 1900.
31. Fischel, Alfr.: Untersuchungen über vitale Färbung. Anat. Hefte, 1901, No. 52/53, S. 417—530.
32. Fischer, Alfr.: Fixirung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899.
33. v. Georgievics: Ueber das Wesen des Färbeprocesses. Mitth. des technolog. Gewerbemuseums in Wien, 1894. Neue Folge IV, S. 205—220; 349—361.
34. v. Georgievics u. Löwy: Ueber das Wesen des Färbeprocesses. Referat aus der Färberzeitung, VI, 1894/95, S. 286.
35. Gierke, H.: Färberei zu mikroskopischen Zwecken. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1884/1885, Bd. I u. II (S. 187—221).
36. Gnehm u. Rötheli: Zur Theorie des Färbeprocesses. Zeitschr. f. angewandte Chemie, 1898, S. 482, 502.

37. Grünwald: Studien über die Zellen im Auswurf u. in entzündl. Ausscheidungen des Menschen. Dieses Arch. 1899, 158, S. 297 bis 344.

38. Heidenhain, M.: Ueber Kern u. Protoplasma. Festschrift f. Kölliker 1892; citirt n. H. F. Müller, Zur Lehre v. Asthma bronchal. Ctrlbl. f. allg. Path., IV, 1893, S. 329 ff.

39. Heidenhain, R.: Beiträge z. Histol. u. Physiologie der Dünndarmschleimhaut. Pflüger's Archiv 1888. 43. Suppl.-Heft, citirt nach Arnold.

40. Heine: Ueber die Molybdänsäure als mikrosk. Reagens. Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1896/97, 22.

41. Derselbe: Die Mikrochemie der Mitose, zugleich eine Kritik mikrochemischer Methoden. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1895/96, 21.

41a. Held, H.: Beiträge zur Struktur der Nervenzellen und ihrer Fortsätze. Arch. f. Anat. u. Physiol.; anat. Abt. 1895.

42. Hirschfeld, H.: Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Leukocyten. Dieses Arch., 149, S. 22—51.

43. Derselbe: Zur Kenntniss der Histogenese der granulirten Knochenmarkszellen. Dieses Arch., 153, S. 335—347.

44. Hofmeister, F.: Zur Lehre von der Wirkung der Salze. VI. Mittheilung. Die Betheiligung gelöster Stoffe an Quellungsvorgängen. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 1891, 28, S. 210—238.

44a. Hwass, L.: Das Beizen der Textilfaser, ein chemischer oder mechan. Process? Lehne's Färberzeitung 1890/91, II, S. 221, 243.

45. Janowski: Beitrag zur Kenntniss der Granulationen der weissen Blutkörperchen. Ctrlbl. f. allg. Path. 1892, III.

46. Kanthack u. Hardy: The morphology and distribution of the wandering cells of mammalia. Journ. of physiol. 1894/95, XVII. Ct. nach Marwedel.

47. Knecht: Zur Kenntniss der chem. Vorgänge, welche beim Färben von Wolle u. Seide mit den basischen Theerfarben stattfinden. Berliner Berichte, 1888, 21. Ct. nach Fischer u. Georgievics.

48. Derselbe: Mittheilung über merkwürdige Capillaritätserscheinungen einiger Farbstoffe. Lehne's Färberzeitung, 1893/94, V, S. 22 bis 24.

49. Laurent, H.: Ueber eine neue Färbemethode mit neutraler Eosin-Methylenblau-Mischung, anwendbar auch auf andere neutrale Farbgemische. Ctrlbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat., 1900, XI, S. 86.

50. Lilienfeld: Zeitschr. f. physiolog. Chemie, 1893, XVIII; 1895, XIX. Citirt nach Pappenheim.

51. Lilienfeld u. Monti: Ueber die mikrochemische Localisation des Phosphors in den Geweben. Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1893, XVII, S. 410.

52. Litten: Zur Lehre von der Leukämie. Verh. des XI. Congr. f. innere Medicin. Leipzig 1892, S. 159.
53. Löwit: Ueber Morphologie u. Beschaffenheit der weissen Blutkörper. Ziegler's Beitr. 1891, X, S. 213—298: insbes. „Die Beschaffenheit des Zellprotoplasmas in den Krebsblutzellen", S. 272—298.
54. Derselbe: Zur Leukämie-Frage. Ctrlbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat., 1894, V, S. 828.
55. Marwedel, G.: Die Morphologischen Veränderungen der Knochenmarks-Zellen bei der eitrigen Entzündung. Ziegler's Beiträge, 1897, XXII, Sep.-Abdruck.
55a. P. Mayer: Beruht die Färbung der Zellkerne auf einem chemischen Vorgange oder nicht? Anat. Anzeig., 1897, XIII.
55b. Michaelis: Ueber Fettfarbstoffe. Dieses Arch. 1901, 164, S. 263 bis 270.
56. Müller, Franz: Ueber einige pathologisch-anatom. Befunde b. d. Ricinvergiftung. Ziegler's Beiträge, 1900, XXVII.
57. Müller u. Rieder: Ueber Vorkommen u. klin. Bedeutung der eosinophil. Zellen im circul. Blute des Menschen. Arch. f. klin. Medicin, 1891, 48, S. 100 ff.
58. Müller, H. F.: Ueber Mitosen an eosinophilen Zellen. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak., 1892, 29, S. 221—235.
59. Derselbe: Die Morphologie des leukäm. Blutes u. ihre Beziehungen zur Lehre v. d. Leukämie. Zusammenfassendes Referat. Ctrlbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 1894, V, S. 553, 601.
60. Nösske, H.: Eosinoph. Zellen und Knochenmark, insbesondere bei chirurg. Infectionskrankheiten u. Geschwülsten. Deutsche Zeitschrift f. Chirurgie, 1900 Bd. 55, S. 211—276.
61. Pappenheim: Ueber Entwickelung und Ausbildung der Erythroblasten. Dieses Arch. 1896, 145, S. 587—643.
62. Derselbe: Abstammung u. Entwickelung der rothen Blutzelle. Dieses Arch. 1898, 151, S. 89—158.
63. Derselbe: Vergleich. Untersuchungen über die elementare Zusammensetzung des rothen Knochenmarkes einiger Säugethiere. Dieses Arch. 1899, 157, S. 19—76.
64. Derselbe: Von den gegenseitigen Beziehungen der farblosen Blutzellen zueinander. Dieses Arch. 1900, 159, S. 40—85; 1900, 160, S. 1—19; 307—324.
65. Derselbe: Grundriss der Farbchemie. Berlin 1901.
65a. Plato: Ueber die „vitale" Färbbarkeit der Phagocyten des Menschen und einiger Säugethiere mit Neutralroth. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickelungsgesch., 1901, 56, S. 868—917.
66. Ponchet: Journal de l'anatomie et de la physiologie, 1879. Citirt nach Zappert.
67. Ponfick: Ueber die sympath. Erkrankungen des Knochenmarkes bei innern Krankheiten. Dieses Arch. 1872, 56, S. 534—556.

68. Posner: Verhandl. des Congr. f. innere Medicin, 1893. Citirt nach Pappenheim (62).
69. Przewoski: Ueber die locale Eosinophilie beim Krebs nebst Bemerkungen über die eosinoph. Zellen im Allg. Ctrlbl. f. allg. Path. u. path. Anat., 1896, VII, S. 177—196.
70. von Perger: Einige Färbeversuche. Lehne's Färberzeitung 1890/91, II.
71. Ranvier: Traité technolog. d'histologie, 1879. Citirt nach Zappert.
72. Rieder: Ueber die Verwendbarkeit des Farbstoffes Sudan III in der klin. Mikroskopie. Deutsch. Arch. f. klin. Medicin, 1898, 59.
73. Rindfleisch: Ueber Knochenmark u. Blutbildung. Arch. f. mikrosk. Anat., 1880, 17, S. 1—11, 21—42.
74. Sacharoff, Ueber die Entstehung der eosinoph. Granulationen des Blutes. Arch. f. mikrosk. Anat., 1895, 45, S. 370—387.
75. Sata: Ueber das Vorkommen von Fett in der Haut u. in einigen Drüsen, den sog. Eiweiss-Drüsen. Ziegler's Beitr., 1900, XXVII.
76. Derselbe: Ueber das Vorkommen von Fett in pathol. Geweben. Ziegler's Beitr., 1900, XXVIII, S. 461—478.
77. v. Scarpatetti, J.: Ueber die eosinoph. Zellen des Kaninchen-Knochenmarkes. Arch. f. mikrosk. Anat., 1891, 38, S. 613.
78. Schultze, M.: Ein heizbarer Objecttisch u. seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. Arch. f. mikrosk. Anat., I. S. 1—42.
79. Schwarze: Ueber eosinophile Zellen. Inaug.-Dissert. Berlin 1880.
80. Semmer: Ueber die Faserstoff-Bildung in Amphibien- u. Vogelblut u. die Entstehung der rothen Blutkörperchen der Säugethiere. Inaug.-Dissert. Dorpat 1874.
81. Spilling: Ueber Blutuntersuchungen bei Leukämie. Inaug.-Dissert. Berlin 1880.
82. Spiro, K.: Ueber physikalische u. physiolog. Selection. Habilitationsschrift. Strassburg i. E. 1897.
83. Tettenhamer: Ueber die Entstehung der acidophilen Leukocyten-Granula aus degenerirenden Kernsubstanzen. Anat. Anz., 1893, VIII, No. 16 u. 17.
84. Unna: Die Entwickelung der Bakterienfärbung. Ctrlbl. f. Bakter. u. Parasitenkunde, 1888, III.
84a. Derselbe: Ueber spontanen und künstlichen Transport von Zellsubstanzen und über Kochsalz als mikrochemisches Reagens. Monatshefte der prakt. Dermatologie, 1901, 33, S. 342—352.
85. Vignon: Comptes rend. de l'acad. des scienc., 1891, 112, 623. Citirt nach Lehne's Färberzeitung 1890/91, II, S. 344.
86. Derselbe: Bulletin de la société industr. de Mulhouse, 1892, 62, S. 563.
87. Weber, C. O.: Ueber die substantiven Farbstoffe; ein Beitrag zur Theorie des Färbens. Lehne's Färberzeitung, 1893, V.
88. Weiss, J.: Eine neue mikrochem. Reaction der eosinoph. Zellen (Ehrlich). Ctrlbl. f. d. med. Wissensch., 1891, 29, No. 40, 41.

89. Derselbe: Das Vorkommen u. die Bedeutung der eosinoph. Zellen u. ihre Beziehungen zur Bioblastentheorie Altmann's. Wiener med. Presse, 1891, insbes. No. 44.

90. Witt, O. N.: Die Theorie des Färbeprocesses. Lehne's Färberzeitung, 1890/91, II, S. 1—6.

91. Zappert: Ueber das Vorkommen der eosinoph. Zellen im menschlichen Blut. Zeitschr. f. klin. Med., 1893 XXIII, S. 227 ff.

Erklärung der Abbildungen auf Taf. VIII.

Trockenpräparate vom Knochenmark des Kaninchens.
(Zeiss. Immersion $\frac{1}{12}$; Ocular 4.)

Fig. 1—6. Färbung mit Ehrlich's Dreifach-Glyceringemisch. 20 Min.

Fig. 1, 2. Sog. eosinophile u. pseudo-eosin. Zelle mit verschieden farbigen Granulis. Fixirung bei 100—140° C.

Fig. 3—6. Fixirung bei mehr als 140° C. Ueberwiegen der Orangefärbung!

Fig. 3—5. Eosinophile Zellen?

Fig. 6. Pseudo-eos. Zelle mit sehr feinen gleichmässig gefärbten Granulis.

Fig. 7—15. Methylenblau-Färbung.

Fig. 7—10. 0,1 pCt. Methylenblau 12 St. lang; Fixirung bei 100—140°; pseudo-eosinoph. Zellen mit spärlichen gefärbten feinen Granulis, die Beziehungen zu Fäden erkennen lassen.

Fig. 11—15. 1 pCt. Methylenblau 7 Min.

Fig. 11. Fixirung unter 100°; pseudo-eos. Zelle mit zahlreichen, ziemlich dicht stehenden, im Wesentlichen gleich grossen, gleich gefärbten Granulis.

Fig. 12. Fixirung in Alkohol absolut.; pseudo-eos. Zelle mit blau u. metachromatisch violett gefärbten Granulis; die verschieden gefärbten Granula lassen einen von ihrer Tinction abhängigen Grössenunterschied nicht erkennen.

Fig. 13. Fixirung in Alkohol absol.; pseudo-eos. Zelle mit versch. gefärbter Granulis; und zwar haben sich die grösseren spärlicheren Granula blau gefärbt.

Fig. 14, 15. Fixirung in Alkohol absol., bezw. unter 100° C.; granulirte Zelle mit grossen kahn- u. keilförmigen Einschlüssen u. metachromatisch, bez. gleichgefärbter feiner Granulirung.

Fig. 16, 17. Fixirung bei 120°. Eosin-Glycerin 24 St., 1 pCt. Methylenblau; kurz. Anilinöl-Xylol; pseudo-eos. Zelle und lockerer, bez. dichter Anordnung der Granula.

Fig. 18. Fixirung bei 120° C. Aurantia-Glycerin 24 St., 1 pCt. Methylenblau, Anilinöl-Xylol 5 Min.; pseudo-eos. od. eosinoph. (?) Zelle mit verschieden gefärbten Granulis.

Fig. 19—38. Fixirung bei 100—140° C. Färbung mit dem Laurent'schen Farbstoffe.
Fig. 19—22. Eosinophile Zellen mit versch. gefärbten Granulis.
Fig. 19. Färbg. mit heisser Lösung; Differenzirung mit Anilinöl-Xylol kurz.
Fig. 20, 21. „ „ „ „ ; „ „ „ „ lang.
Fig. 22. „ „ „ Mischung; „ „ „ „ kurz.
Fig. 23—38. Pseudo-eosin. Zellen.
Fig. 23. Lösung heiss; Differenzirung kurz; spärliche einfarbige Granula mit Beziehungen zu Fäden.
Fig. 24, 25. Lösung heiss; Differenzirung lang; spärliche blaue u. zahlreiche ungefärbte Granula.
Fig. 26, 27. Lösung kalt; Differenzirung kurz; verschieden gefärbte Granula; Beziehungen zu Fäden; event. nur die grösseren Granula blau.
Fig. 28, 29. Lösung kalt; Differenzirung lang: spärliche rothe feine Granula; event. Beziehungen zu Fäden.
Fig. 30. Mischung heiss; Differenzirung kurz; verschiedenfarbige Granula: Beziehungen der basophil. Körnchen zu Kern- oder Zellwand?
Fig. 31—38. Lösung kalt mit Ueberschuss von Methylenblau.
Fig. 31—36. Bei kurzer Differenzirung.
Fig. 37, 38. „ langer „

Lebenslauf.

Ich, Friedrich Henry Hesse, Sohn des Medicinal-Raths Dr. W. Hesse, Kgl. Bezirksarztes in Dresden, wurde am 9. Februar 1875 in Zittau (Kgr. Sachsen) geboren. Ich besuchte von Ostern 1884 das Gymnasium in Zittau, von Neujahr 1889 das in Dresden-Neustadt, welches ich Ostern 1893 nach bestandener Reifeprüfung verliess. Meine Studienorte waren darnach Lausanne (S.S. 1893), Leipzig (W.S. 1893/94 bis W.S. 1894/95, W.S. 1895/96), Freiburg i. B. (S.S. 1896), Bonn (W.S. 1896/97), Heidelberg (S.S. 1897 bis S.S. 1898). Die ärztliche Vorprüfung bestand ich am 15. Februar 1895 in Leipzig, die ärztliche Approbation erhielt ich am 7. April 1899 in Heidelberg. Meiner Militärpflicht genügte ich im Sommer 1895 und im Winter 1899/1900. Vom 1. April 1900 bis 30. März 1901 war ich Assistent am pathologischen Institut in Heidelberg; seit dem 1. April 1901 bin ich Volontär-Assistent an der chirurgischen Universitätsklinik Heidelberg.